

Aus der Abteilung für experimentelle Chirurgie
und pathologische Biochemie an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg
Vorstand: Prof. Dr. med. W. Lorenz

**Potenzierung der Histamin-, Histalog- und Pentagastrin-
stimulierten Säuresekretion des Hundes durch Amodiachin:
Hemmung der Histaminmethyltransferase
der Magenschleimhaut in vivo?**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
KONRAD GOECKE
aus Delbrück

1975

Marburg 1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Potenzierung der Histamin-, Histalog- und Pentagastrin-
stimulierten Säuresekretion des Hundes durch Amodiachin:
Hemmung der Histaminmethyltransferase
der Magenschleimhaut in vivo?**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin
dem Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
KONRAD GOECKE
aus Delbrück



Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg am 24. 1. 1975
Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches

Dekan: Prof. Dr. med. H. Oepen
Referent: Prof. Dr. med. W. Lorenz
Correferent: Prof. Dr. med. H. Hamelmann

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Entdeckung der Histaminmethyltransferase	1
1.2. Vorkommen der Histaminmethyltransferase in Mägen verschiedener Säugetiere	2
1.3. Reaktionsablauf der Histaminmethylierung	3
1.4. Hemmung der Histaminmethyltransferase	3
1.5. Hypothesen zur Frage einer physiologischen Funktion von Histamin in der Magenschleimhaut	5
1.6. Ziel der Arbeit	6
2. Material und Methodik	8
2.1. Material	8
2.1.1. Reagenzien für die Histaminmethyltransferase-Bestimmung	8
2.1.2. Herkunft und Präparation der Histaminmethyltransferase	8
2.1.3. Versuchstiere	9
2.1.4. Medikamente zur Prämedikation, Operation und operativen Nachsorge	9
2.1.5. Pharmaka zur Magensaftstimulierung	9
2.1.6. Fistelkanüle für die Versuche an der Heidenhainpouch	11
2.2. Methodik	14
2.2.1. Fluorometrische Bestimmung der Histaminmethyltransferase-Aktivität	14
2.2.1.1. Inkubationsansätze	14
2.2.1.2. Histaminbestimmung aus den Inkubationsansätzen	16
2.2.2. Isotopenmethode	19
2.2.3. Proteinbestimmungsmethoden	23
2.2.3.1. biuret-Methode	23
2.2.3.2. Methode nach Warburg und Christian	24
2.2.4. Stimulierung der Magensaftsekretion in der Heidenhainpouch des Hundes	24
2.2.4.1. Durchführung der Operation	24
2.2.4.2. Postoperative Nachsorge und Überwachung der Hunde während der Testperiode	26

	Seite
2.2.4.3. Kontrollen zur Funktionsfähigkeit der Versuchstiere	26
2.2.4.4. Testprinzip	27
2.2.4.5. Testverlauf	30
2.2.5. Statistische Auswertung	31
3. Ergebnisse	32
3.1. Vorkommen und Hemmung der Histaminmethyltransferase im Magen verschiedener Säugetiere	32
3.1.1. Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität und des Histamingehalts in den verschiedenen Magenschleimhautarealen von Mensch, Hund und Schwein	32
3.1.2. Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität in der Magenschleimhaut und Magenmuskulatur des Hundes	34
3.1.3. Beziehung zwischen Histamingehalt und Histaminmethyltransferase-Aktivität in diesen Organen	35
3.1.4. Hemmung der Histaminmethyltransferase-Aktivität aus diesen Organen durch das Antimalariamittel Amodiachin	37
3.2. Potenzierung der stimulierten Magensaftsekretion durch den Histaminmethyltransferase-Hemmstoff Amodiachin	39
3.2.1. Potenzierung der Histamin-stimulierten Magensaftsekretion	39
3.2.2. Potenzierung der Betazol-stimulierten Magensaftsekretion	41
3.2.3. Potenzierung der Pentagastrin-stimulierten Magensaftsekretion	41
4. Diskussion	44
4.1. In-vitro-Wirkung von Amodiachin	44
4.2. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Histamin-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin	45
4.3. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Betazol-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin	45
4.4. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Pentagastrin-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin	46

	Seite
4.5. Andere mögliche Mechanismen der Wirkung des Amodiachins	48
5. Zusammenfassung	50
6. Literaturverzeichnis	51

1. Einleitung

1.1. Entdeckung der Histaminmethyltransferase

Im Jahre 1953 fand Schayer (SCHAYER, 1953; SCHAYER et al., 1953), daß bei Mäusen und Katzen nach der Injektion von ^{14}C -Histamin die Dünnschichtchromatogramme des Urins eine größere Menge eines bis dahin unbekannten Abbauprodukts des Histamins zeigten. Dieses Produkt wurde nicht durch die Wirkung von Diaminoxydase gebildet, da die Applikation von Inhibitoren dieses Enzyms wie z.B. Aminoguanidin die Menge des ausgeschiedenen Stoffes nicht beeinflussen konnten. Iproniazid aber, das ein Hemmstoff für viele Enzyme, besonders aber für Monoaminoxydasen ist (ZELLER & BARSKY, 1952), konnte die Bildung des neuen Abbauproduktes fast total hemmen. Schayer (SCHAYER, 1953 a) nannte das Enzym, das für diesen neuen Abbauweg des Histamins verantwortlich war, "histamine metabolizing enzyme II", um diesen Weg dem bis dahin bekannten Weg der oxydativen Desaminierung durch die Diaminoxydase gegenüberzustellen. Die Art des "histamine metabolizing enzyme II" konnte durch die Elementaranalyse des entstandenen Stoffes aufgeklärt werden, die der Bildung von 1-Methylimidazolessigsäure entsprach (KARJALA & TURNQUEST, 1955; KARJALA et al., 1956). Dieser Befund deutete darauf hin, daß der unmittelbare Vorläufer dieser Substanz 1-Methylhistamin sein mußte.

Schayer und Karjala (SCHAYER & KARJALA, 1956) konnten dann zeigen, daß ein Teil des injizierten ^{14}C -Histamins tatsächlich als 1-Methylhistamin (1-Methyl-4-(β -aminoäthyl)-imidazol) ausgeschieden wurde. Die Oxydation des 1-Methylhistamins zu 1-Methylimidazolessigsäure wird durch ein Enzym bewirkt, das einer Monoaminoxydase ähnelt. Rothschild und Schayer (ROTHSCHILD & SCHAYER, 1958) konnten zeigen, daß dieser Schritt noch besser als durch Iproniazid durch 1-Isobutyl-2-isonicotinylhydrazin zu hemmen war. Eine direkte Methylierung von Imidazolessigsäure gelang nicht. Diese Beweiskette zeigte, daß "histamine metabolizing enzyme II" eine Kombination von

einem methylierenden und einem monoaminoxidaseähnlichen Enzym ist.

Während das die oxydative Desaminierung katalysierende Enzym bis heute noch nicht charakterisiert werden konnte, beschrieben Lindahl (LINDAHL, 1958, 1958 a) und Brown et al. (BROWN et al., 1959) die ersten Eigenschaften und Anreicherungen des methylierenden Enzyms. Unter Verwendung von S-Adenosylmethionin als Cosubstrat fanden diese Autoren eine hochspezifische Methylierung von Histamin und nannten deshalb das Enzym Histamin-N-methyltransferase (S-Adenosylmethionin: Histamin-N-methyltransferase, E. C. 2.1.1.8.).

1.2. Vorkommen der Histaminmethyltransferase in Mägen verschiedener Säugetiere

In den Mägen folgender Säugetiere konnte bisher Histaminmethyltransferase-Aktivität nachgewiesen werden: Mensch (LORENZ et al., 1970, 1970 a; DENCKER et al., 1973), menschlicher Fötus (LINDBERG et al., 1963), Hund (KIM et al., 1969; LORENZ et al. 1970, 1970 a), Rind (LORENZ et al., 1970, 1970 a), Schwein (LORENZ et al., 1970, 1970 a), Katze (BROWN et al., 1959), Kaninchen (BROWN et al., 1959; KIM et al., 1969), Meerschweinchen (BROWN et al., 1959; KIM et al., 1969; AXELROD & VESELL, 1970; TAYLOR, 1973) und Maus (BROWN et al., 1959; KIM et al., 1969). Das bisher einzig bekannte Säugetier, bei dem im Magen keine Histaminmethyltransferase-Aktivität gefunden werden konnte, ist die Ratte (BROWN et al., 1959; KIM et al., 1969; AXELROD & VESELL, 1970; BARTH, 1974, persönl. Mitteilung).

1.3. Reaktionsablauf der Histaminmethylierung

Die Histaminmethyltransferase setzt S-Adenosyl-L-methionin (SAM) und Histamin ((β -Aminoäthyl)-imidazol) zu S-Adenosyl-L-homocystein (SAH) und 1-Methylhistamin (1-Methyl-4-(β -amino-äthyl)-imidazol) um (Abb. 1). Allgemein werden bei Transmethylierungen die Methylgruppen als Einheit übertragen (DU VIGNEAUD et al., 1956). Die Übertragung erfolgt in Form einer nucleophilen Substitution am Acceptorsubstrat (MUDD & CANTONI, 1964; O'LEARY, 1965; SHAPIRO & SCHLENK, 1960). Der stark exergone Übergang von SAM in SAH macht es wahrscheinlich, daß Transmethylierungen irreversibel verlaufen (SCHLENK, 1965).

1.4. Hemmung der Histaminmethyltransferase

Wegen der Bedeutung der Histaminmethyltransferase für den Histaminstoffwechsel wurde seit der Entdeckung dieses Enzyms intensiv nach geeigneten, möglichst wirksamen und wenig toxischen Inhibitoren gesucht. Während in vitro sehr viele Verbindungen der verschiedensten Substanzklassen untersucht wurden, z.B. SH-Reagenzien (BROWN et al., 1959; LINDAHL, 1960; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; THITHAPANDHA & COHN, 1970), SH-Gruppen schützende Substanzen (BROWN et al., 1959; LINDAHL, 1960; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964), 2-wertige Metallionen (BROWN et al., 1959; LINDAHL, 1960; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; TAYLOR & SNYDER, 1972), anorganische Ionen (BROWN et al., 1959; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964), Komplexbildner (LINDAHL, 1960; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; AZIZ, 1961), Produktanalogue des 1-Methylhistamins (LINDAHL-KIESSLING, 1962; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964) und des S-Adenosylhomocysteins (ZAPPIA et al., 1969) sowie diese Verbindungen selbst (BROWN et al., 1959; LINDAHL, 1960; BAUDRY et al., 1973), Monoamin-oxydase- und Diaminoxydaseblocker (LINDAHL, 1960; TAYLOR & SNYDER, 1972), biogene Amine (BROWN et al., 1959; LINDAHL

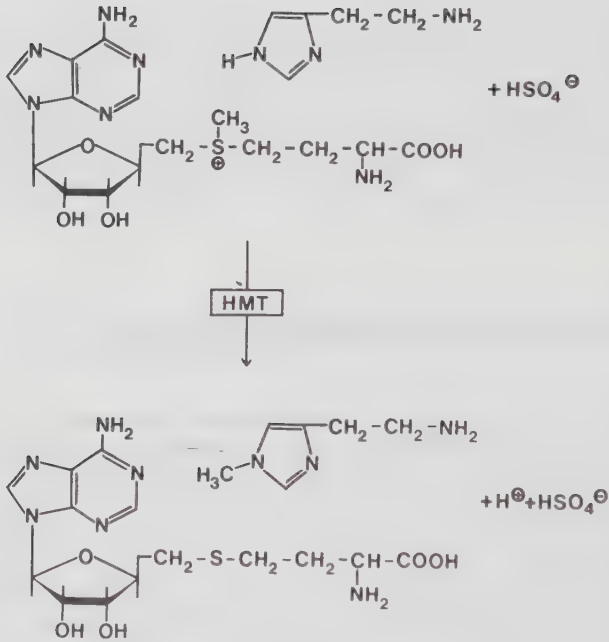


Abb. 1:

Reaktionsablauf der Histaminmethylierung in Anwesenheit von S-Adenosylmethionin als Methylgruppenspender (SCHLENK & ZYDEK, 1966)

1960; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; TAYLOR & SNYDER, 1972; MERRIL et al., 1966), Histidin und Histidinderivate (BROWN et al., 1959; TAYLOR & SNYDER, 1972), Substrate anderer N-Methyltransferasen (LINDAHL, 1960), Vitamine (THITHAPANDHA & SRINOOT, 1972), Antimalariamittel (COHN, 1965; TAYLOR & SNYDER, 1972; SURIYACHAN & THITHAPANDHA, 1972) und Antihistaminica (BROWN et al., 1959; GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; NETTER & BODENSCHATZ, 1967; COHN, 1965; TAYLOR & SNYDER, 1972; TAYLOR, 1973; MERRIL et al., 1966) u.v.a., beschränken sich die in-vivo-Experimente auf die Untersuchungen von Cu^{2+} -Ionen (WHITE, 1961), Chlorpromazin (SCHWARTZ et al., 1971; AMURE & GINSBURG, 1964; WHITE, 1961; COHN, 1965), 2-Br-LSD (AMURE & GINSBURG, 1964) und 1-Methylhistamin (REILLY & SCHAYER, 1970; SCHWARTZ et al., 1971). Während die in-vivo-Beeinflussung der Histaminmethyltransferase in keinem Fall zu einer signifikanten Abnahme der Methylierung des Histamins führte, zeigten in vitro die Reaktionsprodukte Methylhistamin und S-Adenosylhomocystein, die SH-Gruppen-Reagenzien p-Chlormercuribenzoat und N-Äthylmaleimid, Cu^{2+} -Ionen und Zn^{2+} -Ionen sowie die Antimalariamittel und 2-Br-LSD eine starke Hemmung der Histaminmethyltransferase.

1.5. Hypothesen zur Frage einer physiologischen Funktion von Histamin in der Magenschleimhaut

Die Stimulation der Magensaftsekretion durch pharmakologische Dosen Histamin (POPIELSKI, 1920), der Nachweis von Histamin im Magensaft und -gewebe (CODE, 1956; LORENZ et al., 1970 b) und die Histaminfreisetzung durch Gastrin in der Magenschleimhaut der Ratte (KAHLSON et al., 1964) waren Ergebnisse, die zur Hypothese führten, daß Histamin ein physiologischer Chemostimulator der Magensaftsekretion sein könnte (CODE, 1956; KAHLSON et al., 1964; LORENZ & PFLÉGER, 1968). In der Folgezeit verteidigten CODE et al. (1971) und KAHLSON & ROSENGREN (1971) weiterhin die Vorstellung, daß Histamin der finale

Chemostimulator in einer Wirkungskette Gastrin bzw. Acetylcholin - Histaminfreisetzung - Parietalzellstimulierung sei, während dies von einigen Autoren heftig bestritten wird (GROSSMAN, 1967; JOHNSON et al., 1969; HÅKANSON, 1971; WATON, 1971). Die Gründe für diese Meinungsgegensätze sind in widersprüchlichen Ergebnissen und Beurteilungen so ziemlich aller Parameter zu suchen, die für einen physiologischen Chemostimulator als Bedingung angesehen werden: Adäquate Lokalisation im Gewebe (pro: THUNBERG, 1967; contra: HÅKANSON, 1971), Freisetzung während physiologischer Magenstimulation (pro: KAHLSON et al., 1964, 1967; contra: HÅKANSON, 1971), Histaminbildung in der Magenschleimhaut verschiedener Säugerspezies (pro: KAHLSON et al., 1964; WERLE & LORENZ, 1964; LORENZ et al., 1969; contra: AURES et al., 1969).

Eine gute Übereinstimmung konnte jedoch hinsichtlich der Inaktivierung von Histamin im Magen verschiedener Säugetiere (TAYLOR, 1973; DENCKER et al., 1973; BROWN et al., 1959; AXELROD & VESELL, 1970; KIM et al., 1969; LINDBERG et al., 1963) mit Ausnahme der Ratte (BROWN et al., 1959; KIM et al., 1969) durch Histaminmethyltransferase festgestellt werden, während durch Diaminoxidase in der Magenschleimhaut von verschiedenen Säugetieren, einschließlich Ratten, Hunden und Rindern, wenn überhaupt, nur sehr geringe Histaminmengen abgebaut werden konnten (KUSCHE et al., 1969; LORENZ et al., 1970 c).

1.6. Ziel der Arbeit

Aus diesen Gründen lag es nahe, durch in-vivo-Beeinflussung des Histaminstoffwechsels durch Hemmung der Histaminmethyltransferase die oben aufgeworfenen Probleme weiter zu klären. Dabei sollte

1. der qualitative und quantitative Nachweis von Histaminme-

thyltransferase-Aktivität im Magen verschiedener Säugertiere erbracht werden,

2. die in-vitro-Hemmung des Enzyms aus diesen Organen durch das Antimalariamittel Amodiachin geprüft werden und
3. die Wirkung des Amodiachins auf die stimulierte und nicht-stimulierte Magensaftsekretion des Hundes untersucht werden.

2. Material und Methodik

2.1. Material

2.1.1. Reagenzien für die Histaminmethyltransferase-Bestimmung

Histamin-Dihydrochlorid puriss. (Fluka, Buchs), S-Adenosyl-L-methionin-Hydrogensulfat (Boehringer, Mannheim), S-Adenosyl-L-(^{14}C -methyl)-methionin (0,51 mCi/nmol; The Radiochemicals Centre, Amersham), Methanol, n-Heptan, n-Butanol (alle "Uvasol"^R), 2,5-Diphenyloxazol (PPO), 2,2'-p-Phenylene-bis-(5-phenyloxazol) (POPOP) und Toluol (alle "für Szintillationsmessung"), Isoamylalkohol, Aminoguanidinsulfat, Nikotinamid, D(+)-Saccharose puriss., alle anorganischen Salze, Säuren und Basen, Folin-Ciocalteux-Reagenz (alle Merck, Darmstadt), ^{14}C -Toluol-Standard (Buchler, Braunschweig).

Alle Lösungen für die Bestimmung der Histaminmethyltransferase wurden mit doppelt destilliertem Wasser angesetzt.

2.1.2. Herkunft und Präparation der Histaminmethyltransferase

Menschliche Korpuschleimhaut wurde aus Operationsmaterial von Patienten mit Magen- oder Zwölffingerdarmgeschwür (Operation nach BILLROTH) erhalten. Diese Gewebeproben sowie Magenschleimhäute von Hunden (Laboratoriumstiere) und Schweinen (Schlachthaus-tiere) wurden unmittelbar nach Entnahme der Mägen mehrmals mit eiskalter Tyrodelösung gewaschen. Dann wurden die Mägen entlang der Circulärmuskulatur entsprechend den Mukosaabschnitten Fundus, Corpus und Antrum in gleichbreite (3 - 5 cm), streifenförmige Stücke zerlegt. Die Schleimhaut wurde von der Muskularis abgetrennt und die Gewebeproben für mehrere Tage bei -20°C aufbewahrt.

Das Gewebe wurde mit zwei Volumina 0,25 M Sucrose mit dem Ultraturrax homogenisiert, anschließend 30 Minuten bei 2°C

und 100 000 g zentrifugiert und der Überstand als Enzymquelle verwendet.

2.1.3. Versuchstiere

Die Magensekretionsstudien wurden an 13 Bastardhunden beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht von 14 - 30 kg und einem Alter von ungefähr 3 Jahren durchgeführt.

2.1.4. Medikamente zur Prämedikation, Operation und operativen Nachsorge

Pentobarbital Natrium (Nembutal^R; Abbott, Ingelheim), Diazepam (Valium^R; Roche, Basel), sterile physiologische NaCl-Lösung (Universitätsapotheke), Sterofundin^R 1000 (Braun, Melsungen), Aminomel^R, elomel B^R (Salvia, Homburg), Methadon (Polamivet^R; Hoechst, Frankfurt), sterile 5% und 10% Glukose-Lösung (Universitätsapotheke), Carbenoxolon (Biogastrone^R; Homburg, Frankfurt), Gemisch aus Neomycin und Bacitracin (Neobacetin^R; Byk Gulden, Konstanz), Gentamycin (Refobacin^R; Merck, Darmstadt), Candur SHL (Behringwerke, Marburg).

2.1.5. Pharmaka zur Magensaftstimulierung

Betazol-Dihydrochlorid (Histalog^R; Lilly, Gießen), Penta-gastrin (Gastrodiagnost^R; Merck, Darmstadt), Histamin-Dihydrochlorid puriss. (Fluka, Buchs; Herstellung einer sterilen Stammlösung (1 mg/ml) in der Universitätsapotheke), Insulin (Altinsulin; Hoechst, Frankfurt), Amodiachin (freundlicherweise überlassen von R. Wolf M.D., Park & Davis, München; s. Abb. 2), Promethazin (Atosil^R; Bayer, Leverkusen).

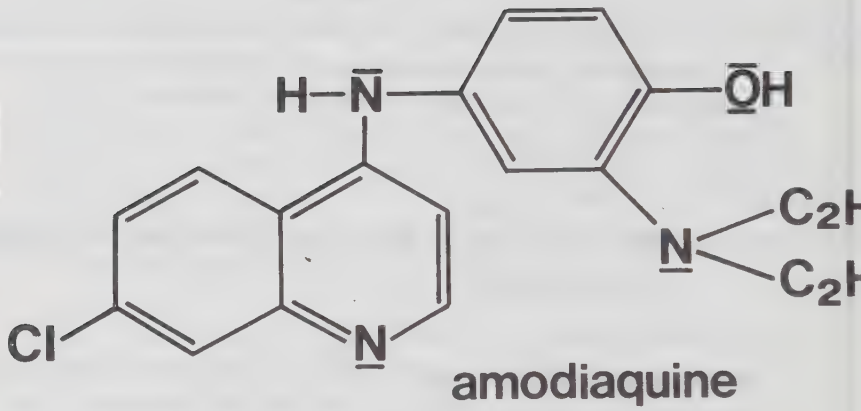


Abb. 2:

Strukturformel von Amodiachin

2.1.6. Fistelkanüle für die Versuche an der Heidenhainpouch

In Anlehnung an bewährte Vorbilder wurde speziell für die Langzeitversuche eine gewebsschonende, korrosionsfeste Kanüle entwickelt (Abb. 3 u. 4) (DRAGSTEDT, 1933; GREGORY, 1950; DE VITO & HARKINS, 1958; LICK & BALSER, 1967). Sie besteht in der Hauptsache aus einem rostfreien Edelstahlrohr (s. Abb. 3 u. 4, Teil 3 und 4), das auf einen Schaft aus Polypropylen (Teil 1) aufgesetzt ist.

Die Basisplatte (BP) an diesem Schaft trägt eine 5 mm tiefe Einkerbung, die das Einführen in ein möglichst kleines Stoma an der Pouch ermöglicht (GREGORY, 1950). Eine zirkuläre Rille am Polypropylen-schaft (K) ermöglicht mittels Tabaksbeutelnaht eine bessere Abdichtung der Magentasche um die Kanüle.

Eine relativ breite Plexiglasscheibe (P), die über das Edelstahlrohr geschoben wird, sitzt auf dem etwas breiteren Schaft aus Polypropylen auf und kommt in situ zwischen die unmittelbar an der Magenwand anliegende Pouch und Bauchdeckeninnen-seite zu liegen (EMAS et al., 1967). Sie soll die außerhalb des Körpers an der Kanüle auftretenden Zugkräfte bzw. Hebelwirkungen von der Pouch auf die Bauchwand ableiten und so die Gefahr des Herausreißen der Fistel aus der Pouch mit verhindern helfen.

Da die Fistelkanüle die Bauchwand für das Anlegen von Teströhrchen ausreichend überragen soll, andererseits eine weit überstehende Kanüle große Hebelwirkungen auslösen könnte, wenn sich das Tier eventuell auf die Fistel legt, wurde das Fistelrohr mit einem Innengewinde zur beliebigen Verlängerung der Kanüle mit einem entsprechend langen Rohrteil versehen. Außen auf der Bauchwand liegt noch eine Polypropylen-scheibe (BP), die zur Bauchwand hin konvex geformt ist, um Druckstellen zu vermeiden. Um das Zurückgleiten der Kanüle zu verhindern, wird sie durch einen auf der Kanüle aufgeschraub-

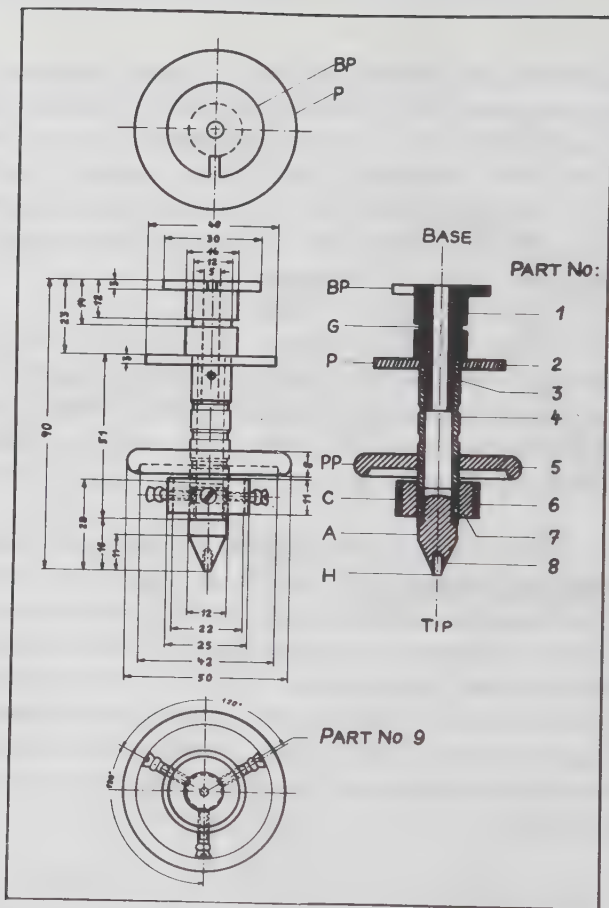


Abb. 3: Schema der Kanüle für die Heidenhaintasche des Hundes im Maßstab 1:3.

Teil 3,4,6,8 und 9 bestehen aus rostfreiem Stahl. Die mit 1,5 und 7 gekennzeichneten Abschnitte sind aus Polypropylen. Teil 2 ist aus Plexiglas. Genauere Beschreibung und Funktion der Teile siehe Text.

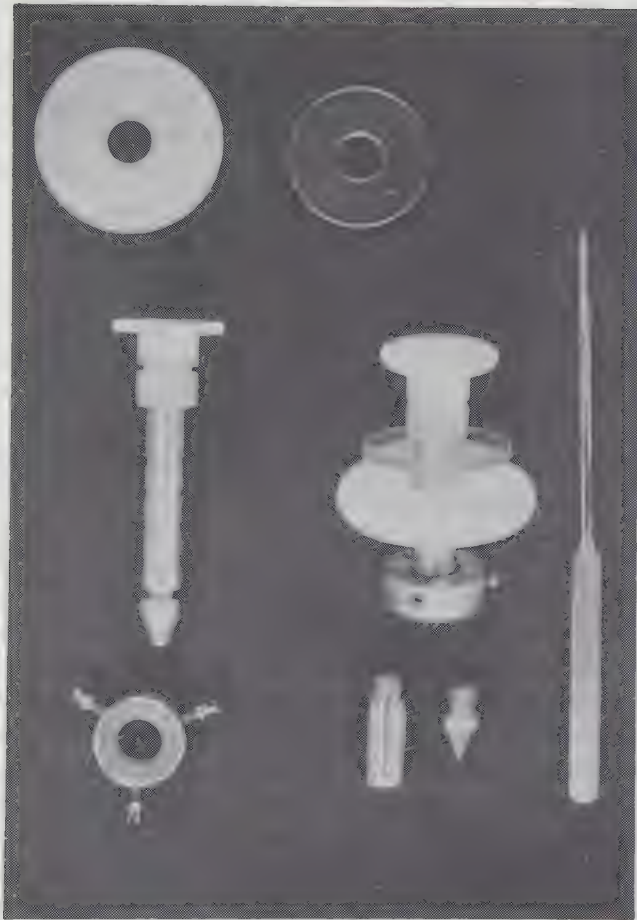


Abb. 4: Fotografie der einzelnen Teile der Kanüle bzw. des Durchzuginstrumentes für die Kanülierung bei der Heidenhaintasche des Hundes:

1. Scheibe aus Polypropylen, die der Bauchwand außen aufliegt
2. Plexiglasscheibe, die zwischen Magentasche und Bauchwandinnenseite liegt
3. Fistelschaft mit aufgeschraubter perforierter Spitze
4. Zusammengeschaubte Kanüle
5. Pfriem
6. "Kragen"
7. Aufschraubbares Verlängerungsstück
8. Aufschraubbare Spitze

ten Kragen (K) in ihrer Position gehalten (GREGORY, 1950).

Eine auf die Kanüle aufsetzbare Spitze mit einem Innengewinde zur Aufnahme eines Pfriems (DE VITO & HARKINS, 1958) ermöglicht ein leichteres Durchführen der Kanüle durch eine möglichst kleine Stichinzision in der linken seitlichen Bauchwand.

2.2. Methodik

2.2.1. Fluorometrische Bestimmung der Histaminmethyltransferase-Aktivität

2.2.1.1. Inkubationsansätze

Zur Bestimmung der Histaminmethyltransferase-Aktivität wurde nach einer Methode von LORENZ et al. (1970) gearbeitet. Die Inkubationsgemische wurden bei 0 °C in 25-ml-Erlenmeyerkolben vorbereitet und hatten ein Gesamtvolumen von jeweils 4 ml, welches sich gemäß Tab. 1 zusammensetzte aus: 1,0 ml Sucrose, 1,0 ml Enzymlösung (nach 2.1.2.), 0,1 ml Aminoguanidinsulfat (als Hemmstoff der Diaminoxidase), 0,1 ml Nicotinamid (als Hemmstoff der NADP-Glycohydrolase), 0,1 ml Magnesiumchlorid, 0,5 ml Histamin und 1,0 ml $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -Puffer, pH 7,4. Nach einer Vorinkubation von 10 Minuten im Wasserbad bei +37 °C wurde die Reaktion durch Zugabe von 0,2 ml S-Adenosylmethionin gestartet. Nach einer Inkubation von 0 - 25 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von 1,0 ml 2N HClO_4 abgestoppt. Der Niederschlag wurde durch Zentrifugieren (5 Minuten bei 1800 g) abgetrennt und der Überstand zur fluorometrischen Bestimmung des nicht abgebauten Histamins benutzt (s. 2.2.1.2.).

Tabelle 1

Mengenangaben und Konzentrationen für die Bestimmung der Histamin-methyltransferase-Aktivität mittels des fluorometrischen Enzymtestes:

Substanz	Volumen	Konzentration	Endkonzentration	Menge/Ansatz
Histamin ³⁾	500 /ul	$5,84 \times 10^{-4} \text{ M}$	$0,8-1,2 \times 10^{-4} \text{ M}$	$0,32-0,48 \text{ /umol}^{1)}$
SAM ³⁾	200 /ul	$5 \times 10^{-3} \text{ M}^{2)}$	$2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$	$1,0 \text{ /umol}$
Nicotinamid ³⁾	100 /ul	$0,40 \text{ M}$	$1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$	40 /umol
Magnesium-chlorid	100 /ul	$0,20 \text{ M}$	$5,0 \times 10^{-3} \text{ M}$	20 /umol
Aminoguanidin-sulfat ³⁾	100 /ul	$4 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$	$0,4 \text{ /umol}$
Saccharose	1000 /ul	$0,25 \text{ M}$	$12,5 \times 10^{-2} \text{ M}$ $(6,25 \times 10^{-2} \text{ M})^{4)}$	500 /umol $(250 \text{ /umol})^{4)}$
Enzymlösung	1000 /ul			
Phosphat-puffer	1000 /ul	$0,05 \text{ M}$	$24 \times 10^{-3} \text{ M}$ $(36 \times 10^{-3} \text{ M})^{4)}$	95 /umol $(145 \text{ /umol})^{4)}$

- 1) Bedingt durch das in der Enzymlösung vorhandene Histamin
- 2) Die Einwäge muß mit dem Faktor 100 : 58 multipliziert werden, da nach Angaben des Herstellers nur 58% der Substanz SAM sind.
- 3) In $0,05 \text{ M}$ Natriumphosphatpuffer, pH 7,4, gelöst.
- 4) Diese Werte treffen für einige Inkubationen zu, bei denen das Enzym nicht in $0,25 \text{ M}$ Sucrose, sondern in $0,05 \text{ M}$ Natriumphosphatpuffer homogenisiert wurde.

Die Aktivität der Histaminmethyltransferase wurde durch die Abbaurate des Histamins in Gegenwart von S-Adenosylmethionin als Methylgruppenspende bestimmt. Vier Inkubationsgemische, denen S-Adenosylmethionin zugesetzt wurde, und vier weitere ohne dieses Cosubstrat wurden jeweils 0, 5, 10 und 15 Minuten inkubiert, weil in diesem Zeitraum Bedingungen einer linearen Anfangskinetik herrschten. Das durch Methylierung umgesetzte Histamin wurde aus der Differenz der Histaminkonzentration in den vier Inkubationsansätzen mit und denen ohne S-Adenosylmethionin bestimmt. Die Anfangsgeschwindigkeit der Reaktion wurde aus dem arithmetischen Mittelwert der 5, 10 und 15 Minutenwerte bestimmt. Die spezifische Aktivität der Histaminmethyltransferase wurde ausgedrückt als pmol abgebautes Histamin/min $\times$ mg Protein.

Neben den acht Inkubationsgemischen wurden noch zwei weitere zur Zeit $t = 0$ säureinaktivierte Bestimmungen durchgeführt: Im ersten Ansatz wurde durch Weglassen des exogenen Histamins das durch die Enzympräparation eingebrachte Histamin unter Inkubationsbedingungen bestimmt. Dadurch war eine Ermittlung des Histamingehalts des auf Histaminmethyltransferase-Aktivität untersuchten Gewebes möglich. Im zweiten Ansatz wurde keine Enzymlösung zugegeben, so daß dieser Wert die exakte Menge des zugegebenen Histamins lieferte. Die Summe der Histaminmengen dieser beiden Ansätze mußten mit dem Histamingehalt beider zur Zeit $t = 0$ säureinaktivierten Inkubationsgemische mit und ohne S-Adenosylmethionin auf $\pm 5\%$ übereinstimmen, da sie sowohl zugesetztes Histamin als auch Enzymlösung enthielten.

2.2.1.2. Histaminbestimmung aus den Inkubationsansätzen

Zur fluorometrischen Bestimmung des nicht abgebauten Histamins nach Kondensation mit o-Phthaldialdehyd (Abb. 5) muß diese aus den Inkubationsgemischen isoliert werden. Dazu

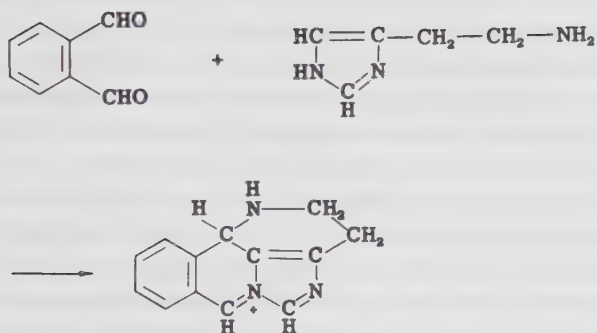


Abb. 5:

Kondensation des Histamins mit o-Phthaldialdehyd

wurde die Extraktionsmethode von Shore (SHORE et al., 1959) benützt:

Nach Zentrifugieren des säureinaktivierten Inkubationsansatzes wurden 3,0 ml des Überstandes durch 0,5 ml 5N NaOH stark alkalisch gemacht und zur Erhöhung der Ionenkonzentration 1,5 g NaCl hinzugegeben. Zusammen mit 10,0 ml n-Butanol wurde diese Histamin enthaltende Lösung 20 Minuten in einem 25-ml-Erlenmeyerkolben geschüttelt (Horizontalschüttler, Fa. Bühler). Nach Zentrifugieren (3 Minuten bei 1800 g) wurde die organische Phase mit 5 ml 0,1N NaOH, die mit NaCl gesättigt war, in einen zweiten 25-ml-Erlenmeyerkolben durch 5 Minuten Schütteln gewaschen. Nach erneuter Zentrifugation (5 Minuten bei 1800 g) wurde die organische Phase in einen 50-ml-Erlenmeyerkolben gebracht, in dem sich 5 ml 0,1N HCl und 15 ml n-Heptan befanden, und Histamin auf diese Weise durch 10 Minuten Schütteln in die wässrige Phase (5 ml 0,1N HCl) zurückgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und 2 ml der wässrigen Phase wurden mit 0,4 ml 1N NaOH alkalisiert und anschließend mit 0,1 ml o-Phthaldialdehyd zur Reaktion gebracht. Genau nach 4 Minuten wurde die Reaktion mit 0,2 ml 3N HCl gestoppt und die Fluoreszenz der gebildeten Verbindung in einem Spektralfluorometer (Zeiss, Oberkochen) bei $21,0 \pm 0,5$ °C gemessen. Die Anregungswellenlänge war 360 nm (Spaltbreite 1,2 mm), die Emissionswellenlänge 450 nm (Spaltbreite 0,8 mm). Der fluoreszierende Histamin-o-Phthaldialdehyd-Komplex war für mindestens 1 Stunde stabil. Die Fluoreszenzintensität war einer Histaminkonzentration von 8 - 700 ng Histamindihydrochlorid/ml 0,1N HCl proportional. Die Ausbeute an Histamin betrug 75 - 85%, der Variationskoeffizient war 4% (n = 10).

2.2.2. Isotopenmethode

Die Hemmung der Histaminmethyltransferase aus verschiedenen Gewebe durch Amodiachin wurde mit Hilfe der Isotopenmethode nach SNYDER & AXELROD (1965) nachgewiesen, wobei die Bildung von $[^{14}\text{C}]\text{-1-Methylhistamin}$ gemessen wurde.

Zur Bestimmung wurden 0,1 ml des Enzyms verwandt. In einem Gesamtvolumen von 0,5 ml waren folgende Substanzen enthalten (Mengenangaben und Konzentrationen siehe Tabelle 2): Histamin, S-Adenosyl-L-methionin-Hydrogensulfat, S-Adenosyl-L- $(^{14}\text{C}\text{-methyl})\text{-methionin}$ und Puffer (in der Regel Dinatriumhydrogenphosphat/Natriumdihydrogenphosphatpuffer, pH 7,4).

Die Inkubationen wurden in Reagenzgläsern mit Glasschliffstopfen unter Luftatmosphäre durchgeführt. Die Reagenzgläser wurden in einem Thermoblock auf $+37^\circ\text{C}$ erwärmt und während der gesamten Inkubationszeit auf dieser Temperatur gehalten. Die Einhaltung der Temperatur auf $\pm 0,5^\circ\text{C}$ wurde durch Messungen in Kontrollansätzen überwacht.

Die Reaktionen wurden durch Zugabe von S-Adenosyl-Methionin gestartet, nachdem alle anderen Komponenten der Reaktion für 30 Minuten bei $+37^\circ\text{C}$ vorinkubiert waren. Durch die Zugabe von 0,5 ml 0,5M Boratpuffer, pH 10,0, wurden für jede Aktivitätsbestimmung verschiedene Inkubationsansätze nach 0, 15, 30, 45 und 60 Minuten abgestoppt. Die Bestimmung der Aktivität zur Zeit 0 Minuten diente zur Bestimmung der unspezifisch eingebrachten, in das Toluol/Isoamylalkohol-Gemisch (siehe unten) extrahierbaren Radioaktivität. Gleichzeitig wurden zu den Blanks, die die gesamte Reaktionszeit von 60 Minuten auf pH 10,0 gehalten wurden, andere Blanks inkubiert, um den Anteil an Radioaktivität, der nicht auf die enzymatische Übertragung von $^{14}\text{C}\text{-Methylgruppen}$ auf Histamin zurückzuführen war, so genau wie irgend möglich zu bestimmen. Ein Teil dieser Blanks enthielt eine Enzymlösung, die 10 Minuten bei 100°C erhitzt worden war, in anderen war die Enzymlösung durch

entsprechende Volumen 0,01M Natriumphosphatpuffer, pH 7,4, ersetzt und schließlich wurden noch Blanks angesetzt, die Amodiachin in 10^{-3} M Konzentration enthielten. Alle diese Blanks wurden mit denen verglichen, die nach Abstoppen mit Boratpuffer die gleiche Zeit wie die Hauptwerte bei $+37^{\circ}\text{C}$ gehalten worden waren. Alle diese Blanks differierten nicht voneinander. Die Werte stiegen von 80 cpm für die Nullwerte bis auf 150 cpm für die Inkubationen von 60 Minuten. Ein gerätebedingter Background von 30 cpm wurde durch Einstellen am Flüssigszintillationszähler automatisch substrahiert.

Nach dem Abstoppen der Reaktion in den gleichen Gefäßen, die auch für die Inkubation benutzt wurden, wurde das gebildete $[^{14}\text{C}]\text{-1-Methylhistamin}$ durch mechanisches Schütteln auf einem Horizontalschüttler in 6 ml Toluol/Isoamylalkohol-Gemisch (3:2 V/V) eingeschüttelt. Die Phasen wurden durch 5-minütige Zentrifugation bei 1800 g getrennt. Die Ausbeute dieser Extraktion wurde durch die Zugabe von $[^{14}\text{C}]\text{-1-Methylhistamin}$ als internem Standard bestimmt (diese Standardsubstanz wurde im eigenen Labor durch enzymatische Bildung unter Verwendung von Histaminmethyltransferase aus Schweinemagen und anschließender präparativer Dünnschichtchromatographie auf Celluloseplatten hergestellt) und betrug 60%. Zur Zählung von 4 ml des organischen Extraktes wurden diese in Polyäthylen-Szintillationsfläschchen mit 10 ml Toluol Szintillator (0,4% PPO; 0,1% POPOP) und 2 ml absolutem Äthanol versetzt und dann im Flüssigszintillationszähler auf $\pm 1,5\%$ (2 σ -Grenze) genau gezählt. Der Wirkungsgrad der Zählausbeute wurde durch mehrere abgestoppte 0-Werte, denen verschiedene bekannte Mengen (0,01 - 0,05 $\hat{=}$ 7760 - 38800 cpm) C-14-Toluol (1) nach der Inkubation oder (2) nach der Inkubation, Extraktion und Zentrifugation zugegeben waren, bestimmt. Er betrug 83,4% ($n = 21$, $V_c\% = 3,4\%$). Außerdem wurde eine Quenchkontrolle mittels eines hochenergetischen externen Standards in zwei Kanälen durchgeführt. Als Maß für den Quench wurde das externe Standard-Kanalverhältnis bestimmt.

Tabelle 2

Mengenangaben und Konzentrationen für die Bestimmung der Histamin-methyltransferase-Aktivität mittels des radioaktiven Enzymtestes:

Substanz	Volumen	Konzentration	Endkonzentration	Menge/Ansatz
Histamin ³⁾	100 μ l	$5,84 \times 10^{-4} \text{M}$	$1,17 \times 10^{-4} \text{M}$	0,058 μ mol
SAM ³⁾	50 μ l	$5,0 \times 10^{-3} \text{M}$ ²⁾	$7 \times 10^{-4} \text{M}$	0,25 μ mol
^{14}C -SAM	50 μ l	$2,0 \times 10^{-3} \text{M}$ ⁴⁾	$7 \times 10^{-4} \text{M}$	0,10 μ mol ¹⁾ $\hat{=}$ 51 μ Ci $\hat{=}$ 113220 dpm
Enzymlösung ³⁾	100 μ l			
Phosphat-puffer	200 μ l	0,05M	0,0045M	225 μ mol

1) Spezifische Aktivität 0,51 mCi/mmol

2) Die Einwage muß mit dem Faktor 100 : 58 multipliziert werden, da nach Angaben des Herstellers nur 58% der Substanz SAM sind.

3) In 0,05M Natriumphosphatpuffer, pH 7,4, gelöst

4) Gelöst in Schwefelsäure, pH 2,0 - 3,0

Die Aktivität der Histaminmethyltransferase wurde durch die Zunahme des in das Toluol/Isoamylalkohol-Gemisch extrahierten ^{14}C -1-Methylhistamins bestimmt. In der Regel wurden vier Inkubationsansätze von 15, 30, 45 und 60 Minuten gewählt (in anderen Inkubationsreihen wurden zwischen zwei und fünfzehn Inkubationszeiten pro Aktivitätsbestimmung gewählt). Von diesen Werten wurde der Nullwert und zusätzlich der durch andere Methoden (siehe oben) ermittelte oder interpolierte Blanks abgezogen. Dieser lag im Durchschnitt bei 1,16 cpm/Min. (Extremwerte 1,0 - 1,5 cpm/Min.). Als Reaktionsgeschwindigkeit wurde dann cpm/Min. berechnet. Der Mittelwert aus diesen vier Werten lieferte dann die lineare Anfangsgeschwindigkeit, aus der die spezifische Aktivität der Histaminmethyltransferase als pmol abgebautes Histamin/Min. $\times$ mg Protein errechnet wurde. Der Variationskoeffizient für nach dieser Methode bestimmte Histaminmethyltransferase-Aktivitäten war unter der Verwendung von Rohenzym als auch von teilgereinigten Präparaten 3,8% ($n = 12$), bei Zusatz eines Inhibitors in einer Konzentration, die eine 50%ige Hemmung der Histaminmethyltransferase bewirkte, stieg der Variationskoeffizient auf 5,0% ($n = 21$). Wurde der Variationskoeffizient unter Verwendung verschiedener Konzentrationen eines Rohenzympräparates bestimmt (Proteingehalt zwischen 1,140 mg und 0,055 mg/Inkubationsansatz), so stieg er auf 4,5% ($n = 5$). Wurde die Enzymaktivität von Proben einer teilgereinigten Enzympräparation über einen Zeitraum von drei Wochen hinweg jeden 4. Tag bestimmt, so ergab sich ein durchschnittlicher Variationskoeffizient von 4,9% ($n = 5$).

Besondere Vorsichtsmaßnahmen:

Nach Abstoppen der Reaktion mit Boratpuffer sollte das Toluol/Isoamylalkohol-Gemisch erst unmittelbar vor der Extraktion zugegeben werden, da sonst durch eine teilweise Verdampfung des Toluols zu hohe ^{14}C -1-Methylhistamin-Konzentrationen gemessen und daher eine zu hohe Reaktionsgeschwindigkeit vorgetäuscht wird. Ein zeitlicher Abstand zwischen dem Abstoppen der Inku-

bationen und der Zugabe des Toluol/Isoamylalkohol-Gemisches bis zu 3 Stunden hat keinen Einfluß auf die Menge gebildeten und extrahierten 1-Methylhistamins.

2.2.3. Proteinbestimmungsmethoden

Die Aktivität der Histaminmethyltransferase wurde auf die eingebrachte Enzymproteinmenge bezogen. Das Protein wurde hierzu bei den Inkubationen mit Rohhomogenaten (0,5 - 10 mg Protein/Ansatz) nach der Biuret-Methode (WEICHSELBAUM, 1946) bestimmt. Proteinkonzentrationen unter 0,5 mg pro Ansatz wurden durch UV-Absorption bei 260 nm und 280 nm gemessen (WARBURG & CHRISTIAN, 1936).

2.2.3.1. Biuret-Methode

Neben einem Leerwert, bestehend aus 5,0 ml Biuret-Reagenz und 5,0 ml physiologische Kochsalzlösung, wurden die eigentlichen Meßansätze, bestehend aus 5,0 ml Biuret-Reagenz, 4,9 ml physiologische Kochsalzlösung und je 0,1 ml Enzymlösung, am Eppendorf-Photometer bei 546 nm gemessen. Aus der Differenz beider Werte kann nach der Formel $\Delta E \times f =$ mg Protein/ml die Proteinkonzentration bestimmt werden. Als Referenzsubstanz zur Bestimmung des Faktors f wurde Albumin aus Rinder Serum benutzt. Für 0,1 ml eingesetzte Enzymlösung war $f = 418$.

2.2.3.2. Methode nach Warburg und Christian

In einigen Fällen geringer Mengen Protein wurde die Methode nach Warburg und Christian angewendet und die Proteinkonzentration nach der Formel $1,45 \times E_{280} - 0,74 \times E_{260} =$ mg Protein/ml berechnet.

2.2.4. Stimulierung der Magensaftsekretion in der Heidenhainpouch des Hundes

Die Wirkung von Amodiachin auf die Histamin- und pentagastrinstimulierte Magensaftsekretion wurde an insgesamt 13 Hunden mit Heidenhaintaschen untersucht. 5 Tiere wurden für Pentagastrin allein verwendet, 2 für Pentagastrin und Histamin, 2 für Pentagastrin und Betazol und 4 für Histamin allein. Überlappungen waren beabsichtigt, um den Effekt von Amodiachin auf verschiedene Stimulantien an demselben Tier zu studieren.

2.2.4.1. Durchführung der Operation

Es wurde eine modifizierte Technik von EMAS^o et al. (1967) angewendet. Ungefähr 3 Jahre alte, gesunde Hunde wurden operiert, nachdem sie zwei Wochen zuvor mit Candur SHL gegen Staupe, Leptospirose und Hunde-Hepatitis geimpft und durch Injektion von Citarin (10 mg/kg) entwurmt worden waren. Die Heidenhainpouch wurde in Allgemeinnarkose mit Pentobarbital (20 - 30 mg/kg i.v.) und bei Spontanatmung unter sterilen, in der Humanmedizin üblichen operativen Bedingungen angelegt. Nach Eröffnung der Bauchhöhle durch eine 8 - 10 cm lange Incision in der Mittellinie (Linea alba) wurde die Milz vor die Bauchwand hervorgeholt (DE VITO & HARKINS, 1955). Der Magen wurde ausgebreitet und einzelne Haltefäden an der

großen und kleinen Krümmung angebracht. Um (1) an der Pouch den Korpusanteil (stärkste Dichte der Parietalzellen) so groß wie möglich zu erhalten, (2) eine Stenose im Restmagen zu vermeiden und (3) keine Antrumschleimhaut in die Pouch mit einzubeziehen, wurde folgendes Verfahren gewählt: Ein Levin-Magenschlauch wurde von oral bis zur Mitte der großen Krümmung eingeführt. Die Lage seiner Spitze wurde kontrolliert und, falls erforderlich, durch Manipulieren am Schlauch von außerhalb des Magens korrigiert. Kongorot wurde instilliert und durch eine kleine Incision an der Magenvorderseite wurde der Farbwechsel an der Korpus-Antrum-Grenze beobachtet und durch Fäden von außen gekennzeichnet. Die aborale Absetzungslinie der Pouch wurde 1 cm proximal der Korpus-Antrum-Grenze gesetzt, die orale Abgrenzungslinie mit Rücksicht auf die Blutversorgung an der großen Krümmung in der Mitte des Fundus. Nun wurde mit dem Petz in 1 - 2 Schritten von der oberen und unteren Grenze aus ein fast halbmondförmiger Teil des Magens abgeklemmt und die so gesetzte Silberklammerreihe des Magens und der Magentasche anschließend durch eine fortlaufende invertierende Naht mit 3-0 Seide serosiert. Die Fistelkanüle (s. Abb. 3 und 4) wurde am tiefsten Punkt des Nebemagens entsprechend der Arbeit von EMAS et al. (1967) eingesetzt, wobei die Pouch rings um die Fistel durch zwei konzentrische Tabaksbeutelnähte verschlossen wurde. Dann wurde die Kanüle durch einen kleinen Einschnitt an der lateralen Bauchwand durchgezogen, wobei darauf geachtet wurde, daß die Fistelkanüle aufgrund ihrer Lage die Bewegungen der Hinterläufe nicht einschränken konnte. Um ein Verdrehen oder Einreißen der den Nebemagen versorgenden Blutgefäße zu vermeiden, wurde dieser an der Unterseite der Bauchwand festgenäht, wobei dieselben Fäden wie die bereits für die Tabaksbeutelnaht beim Einnähen der Fistelkanüle verwendeten benutzt wurden. Der Bezirk der Haut, in der die Kanüle durch die Bauchwand gestoßen wurde, wurde nicht geschoren, da ein dichtes und langes Fell einen guten Schutz gegen Mazeration durch herausfließenden Magensaft darstellt.

2.2.4.2. Postoperative Nachsorge und Überwachung der Hunde während der Testperiode

Nach der Operation wurden die Hunde sechs Tage lang durch subcutane Gabe von 1000 ml Infusionslösung/Tag (500 ml Traubenzucker 5% + 500 ml Aminomel bzw. Elomel B) ernährt, wobei sie am 5. und 6. postoperativen Tag zusätzlich mit Milch gefüttert wurden. Vom 8. Tag an wurde normales Laborfutter gegeben. Am 9. bis 10. Tag wurden die Fäden gezogen. Zweimal wöchentlich wurde das Gewicht kontrolliert, das während des gesamten Untersuchungszeitraumes das Operationsgewicht nicht übersteigen sollte. 4 Wochen nach der Operation wurden die Hunde erstmals in die Pawlow-Stände geführt, um sie an die Testsituation zu gewöhnen und nach weiteren zwei bis drei Wochen wurden die ersten Sekretionsteste ausgeführt. Der Versuchszeitraum betrug für den einzelnen Hund durchschnittlich 10 - 12 Monate, insgesamt 2 Jahre. Die Sekretionsteste wurden über den gesamten Versuchszeitraum in einem absolut gleichmäßigen Rhythmus durchgeführt: Jeden Montag und Donnerstag wurden die Experimente von derselben Person zwischen 14.00 und 18.00 Uhr in demselben ruhigen, hellen Raum ausgeführt. Da jedem Versuch ein 20-stündiges Fasten der Versuchshunde vorausging, konnten pro Woche nur zwei Versuche durchgeführt werden.

2.2.4.3. Kontrollen zur Funktionstüchtigkeit der Versuchstier

Durch Erhöhung oder Erniedrigung vorher als maximal festgestellter Dosen des Stimulus wurde das Gleichbleiben des maximalen Sekretionsniveaus über Monate hin überprüft. Durch einen Insulintest alle halbe Jahre mit 0,2 E Altinsulin/kg i.v. wurden eine ausreichende parasympathische Denervierung der Tasche und das Fehlen einer Reinnervation gesichert. Dabei

wurde halbstündlich der Blutzucker kontrolliert und der Test nur gewertet, wenn Blutzuckerkonzentrationen zwischen 30 und 11 mg Glucose pro 100 ml Blut erreicht wurden (BARON, 1970). Zur Überprüfung des Allgemeinzustandes der Tiere wurde neben den Gewichtskontrollen monatlich der Säure-Basen-Haushalt sowie das Blutbild zum Ausschluß von Anämie und chronischen Entzündungen überwacht. Um den Chloridverlust durch über die Fistel auslaufenden Magensaft auszugleichen, wurde den Hunden an drei aufeinanderfolgenden Wochentagen physiologische Kochsalzlösung zum Trinken gegeben, an den übrigen Tagen bekamen sie wieder Trinkwasser vorgesetzt.

2.2.4.4. Testprinzip

Das Prinzip der Testung entsprach im wesentlichen der 3-Punktbestimmung, wie sie auch bei anderen biologischen Testen üblich ist: Zunächst wurde für jeden Hund mit dem Stimulus, mit dem er getestet werden sollte, eine Dosiswirkungskurve erstellt. Pro Testtag wurde jeweils nur eine Dosis verabreicht. Dann wurde die Reproduzierbarkeit der Magensekretion durch eine Dosis, die maximale Stimulation hervorruft, geprüft. Die maximale Antwort der Magen_mukosa auf das Stimulans wurde als konstant betrachtet, wenn wenigstens drei aufeinanderfolgende Stimulierungen mit derselben Dosis des Sekretagogums zu Sekretionen führten, die in Volumen und Säuremengen nur $\pm 5\%$ voneinander differierten. Das ganze Testsystem war trotz der relativ großen Intervalle überhaupt nur deshalb geeignet, weil sich das Sekretionsniveau praktisch über Monate nicht veränderte. Nach einer derartigen Prüfung des Testsystems an jedem Tier folgte auf einen Test mit dem Sekretionsstimulans allein ein Test mit Stimulus plus Amodiachin und darauf wieder ein Test mit dem Stimulus allein. Der letztere Test wurde solange wiederholt, bis das Sekretionsniveau vor dem Test mit Amodiachin wieder erreicht wurde (s. Abb. 6 und 7).

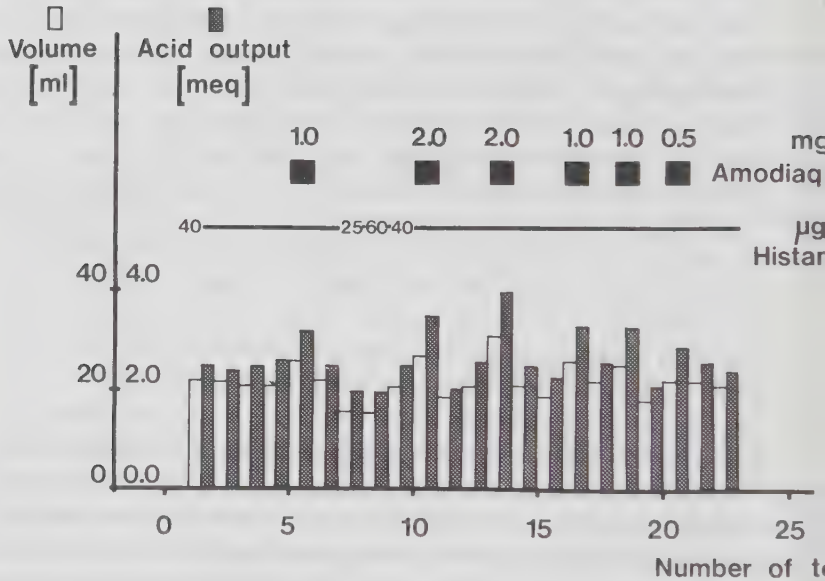


Abb. 6:

Steigerung und ihre Reproduzierbarkeit der Histamin-grundstimulierten Magensekretion an der Heidenhaintasche des Hundes durch Amodiachin.

Aus dem Testprogramm sind 11 Wochen abgebildet, einschließlich den initialen Testen zur Prüfung der Sekretionsleistung der Pouch und deren Reproduzierbarkeit. Entsprechend dem Testprogramm (s. Text) ist die Steigerung von 40 µg/kg Histamin durch verschiedene Dosen Amodiachin abgebildet. Histamin ist als Histamindihydrochlorid zugegeben. Die Ergebnisse (Säulen) stellen die Gesamtsekretion dar (Volumen und Säuremenge pro Sekretionsperiode).

Hund Nr. 12, männlich, 23,5 kg, Operationstermin 12. 7. 1971

Volumen □ Säure ▨

Weitere Angaben siehe Text unter Material und Methode.

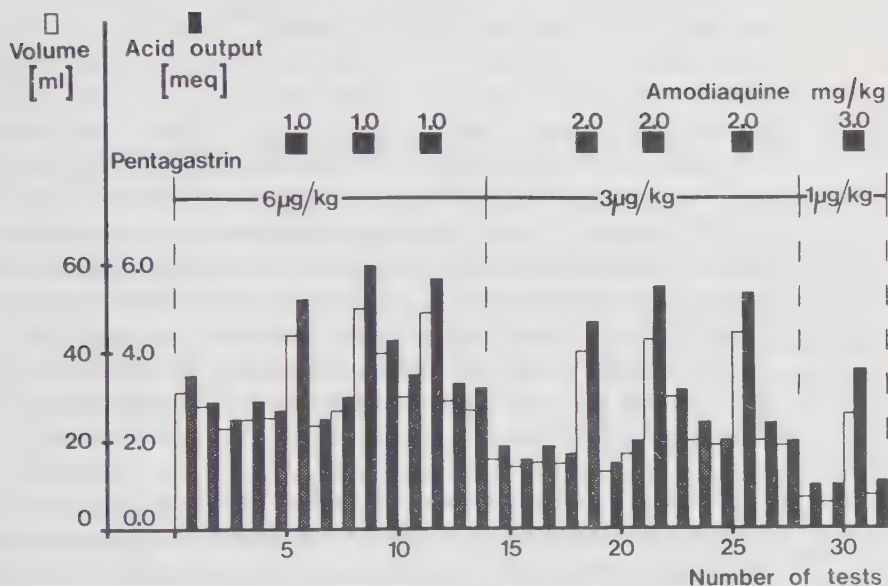


Abb. 7:

Steigerung und ihre Reproduzierbarkeit der Pentagastrin-grund-stimulierten Magensekretion an der Heidenhaintasche des Hundes durch Amodiachin.

Aus dem Testprogramm sind 16 Wochen abgebildet, einschließlich den initialen Testen zur Prüfung der Sekretionsleistung der Pouch und deren Reproduzierbarkeit. Gemäß Testprogramm (s. Text) ist die Steigerung von drei verschiedenen Dosen Pentagastrin durch verschiedene Dosen von Amodiachin abgebildet. Die Ergebnisse (Säulen) beziehen sich auf die Gesamtmagensekretion (Volumen und Säuremenge pro Sekretionsperiode).

Hund Nr. 1, männlich, 24 kg, Operationstermin 20. 4. 1970

Volumen □ Säure ■

Weitere Angaben siehe Text unter Material und Methode.

2.2.4.5. Testverlauf

Zu Beginn eines Testes wurde bei den Hunden die Basalsekretion in zwei 30-Minuten-Portionen gesammelt. Tiere, die mehr als 1 ml/60 Min. sezernierten, wurden für diesen Versuch zurückgestellt. Anschließend wurde Amodiachin intramuskulär verabreicht, 30 Minuten später der Stimulus (Betazol, Pentagastrin, Histamin), welcher ebenfalls intramuskulär injiziert wurde. Die Magensaftsekretion wurde in halbstündlichen Portionen über 2 1/2 Stunden in graduierten Zentrifugengläsern gesammelt. Nach 2 1/2 Stunden wurde in allen Versuchen das Basalsekretionsniveau wieder erreicht. Das Volumen der einzelnen Portionen wurde protokolliert, Beimengungen von Blut, Zelldetritus oder Schleim vermerkt und die Säuremenge durch Titration mit 0,1N NaCl bis pH 7,0 mit einem pH-Meter an der Glaselektrode (WTW-Weilheim) ermittelt.

Die maximale Sekretionsantwort auf den Stimulus wurde durch zwei Parameter definiert: die Gesamtsekretion und die Gipfelsekretion. Die Gesamtsekretion bestand aus allen Fraktionen des Magensaftes, der innerhalb der 2 1/2 Stunden dauernden Sekretion gewonnen wurde, und wurde ausgedrückt als ml Volumen/Sekretionsperiode und meq Säure/Sekretionsperiode. Die Gipfelsekretion wurde von den beiden aufeinanderfolgenden 30-Minuten-Fraktionen dargestellt, die das größte Volumen und den größten Säureausstoß von allen 30-Minuten-Portionen während der Sekretionsperiode aufwiesen. Die Gipfelsekretion war unabhängig von dem Zeitpunkt, der der Injektion des Stimulus folgte, und wurde in ml/h und meq/h ausgedrückt. Um den Einfluß von Amodiachin auf die stimulierte Magensekretion berechnen zu können, wurden die arithmetischen Mittel für Volumen und Säuremenge der beiden Versuche vor und nach dem Test mit Amodiachin plus Stimulus mit den Werten für Volumen und Säuremenge verglichen, die in dem Versuch mit Amodiachin plus Stimulus erreicht wurden. Steigerung oder Hemmung der

stimulierten Sekretion durch Amodiachin wurden in Prozent ausgedrückt, weil die Variabilität der Sekretionswerte von Tier zu Tier relativ hoch war. Das arithmetische Mittel der Vor- und Nachtestung wurde gleich 100% gesetzt.

2.2.5. Statistische Auswertung

Mittelwerte und Standardabweichungen, die vielfach angegeben werden, sowie statistische Signifikanz wurden nach dem Student-t-test oder dem t-Test für gepaarte Daten (SNEDECOR & COCHRAN, 1968) mit Hilfe eines Tischcomputers (Olivetti, Programma 102) ermittelt. Da die Einzelwerte der Sekretionen bei den Experimenten an den Hunden infolge unterschiedlicher Pouchgröße von Tier zu Tier erheblich streuten (12 - 63 ml Magensaft/h), die Wirkung von Amodiachin auf die Sekretion aber nicht durch die absolute Größe der Sekretion beeinflußt wurde, stellten wir der Anschaulichkeit wegen die Ergebnisse in den Abbildungen prozentual dar. Die stimulierte Sekretion vor und nach Amodiachin wurde dabei gleich 100% gesetzt. Die absoluten Werte für Sekretionsvolumina und Säuremengen werden aber im Text oder in der Legende der Abbildungen vermerkt.

3. Ergebnisse

3.1. Vorkommen und Hemmung der Histaminmethyltransferase im Magen verschiedener Säugetiere

3.1.1. Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität und des Histamingehalts in den verschiedenen Magenschleimhautarealen von Mensch, Hund und Schwein

Vorkommen und Verteilung der Histaminmethyltransferase und des Histamins wurde im Magen des Menschen, des Hundes und des Schweines untersucht.

Bei allen drei Spezies konnte in der Magenschleimhaut eine hohe Aktivität der Histaminmethyltransferase festgestellt werden. Die Aktivitäten lagen erheblich über den Werten von 42 - 89 pmol/min x mg Protein im Meerschweinchenhirn, welches als die Enzymquelle mit der höchsten Histaminmethyltransferase-Aktivität angegeben wurde. Die absolut höchsten Werte wurden mit 590 pmol/min x mg Protein in der Schweineantrummucosa gemessen (Tab. 3). Bei allen drei Spezies fällt die Enzymaktivität vom Fundus zum Corpus ab und steigt zum Pylorus hin wieder an (Abb. 9). In sieben menschlichen Magenschleimhäuten war von der Corpus-antrum-Grenze bis zum pylorusnahen Antrum hin ein Sprung in der Aktivität von 166 ± 42 auf 275 ± 86 pmol/min x mg Protein mit einer Signifikanz von $p < 0,025$ zu verzeichnen. Demnach besteht anders als bei der Verteilung des Histamins keine Beziehung zwischen der Dichte der Parietalzellen und der Aktivität der Histaminmethyltransferase.

Die hohen Aktivitäten im Bereich des Pylorus und des cardianahen Fundus fallen besonders auf. Sie deuten auf eine mögliche Funktion des Enzyms im Bereich der Sphinkteren hin. Obwohl in den meisten Mägen im Fundus eine um ca. 20 - 30% höhere Aktivität als im Corpus zu finden war, ließen sich diese Werte statistisch nicht signifikant voneinander unter-

Tabelle 3

Histaminmethyltransferase-Aktivität in der Magenschleimhaut des Menschen, Hundes und Schweines

Spezies	Schleimhaut- abschnitt	n	Enzymaktivität in pmol/min x mg Protein $[\bar{x} \pm \text{S.D.}]$	Extremwerte	Signifikanz
Mensch	Fundus (F)	6	135 $\pm$ 53	74 - 228	$P_{F/C} < 0,001$
	Corpus (C)	12	66 $\pm$ 30	21 - 117	$P_{C/A} < 0,001$
	Antrum (A)	12	256 $\pm$ 103	124 - 468	$P_{F/A} < 0,001$
Hund	Fundus (F)	8	247 $\pm$ 76	134 - 356	$P_{F/C} \text{ n.s.}$
	Corpus (C)	8	257 $\pm$ 82	98 - 353	$P_{C/A} < 0,001$
	Antrum (A)	8	397 $\pm$ 101	245 - 574	$P_{F/A} < 0,001$
Schwein	Fundus (F)	8	285 $\pm$ 117	156 - 456	$P_{F/C} < 0,1$
	Corpus (C)	8	186 $\pm$ 80	104 - 334	$P_{C/A} < 0,001$
	Antrum (A)	28	413 $\pm$ 93	250 - 590	$P_{F/A} < 0,001$

3.1.2. Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität
in der Magenschleimhaut und Magenmuskulatur des Hundes

An zwei Hundemägen wurde die Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität in der Mucosa und den dazugehörigen Stücken Muskularis untersucht (Abb. 8). Danach ist das Enzym in der Muskularis von Fundus, Corpus, Antrum und Pylorus ziemlich gleichmäßig verteilt nicht dagegen in der Mucosa, wo die höchste Aktivität im Bereich des Pylorus zu finden ist.

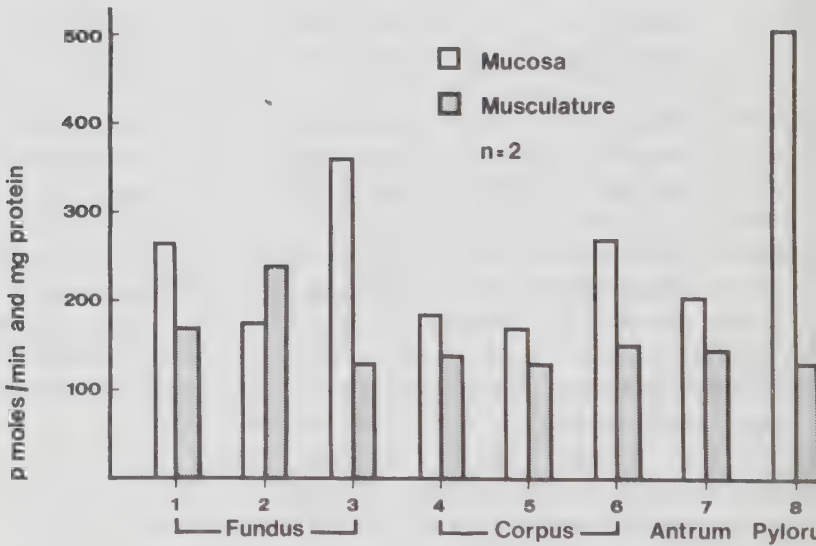


Abb. 8:

Verteilung der Histaminmethyltransferase im Magen des Hundes

3.1.3. Beziehung zwischen Histamingehalt und Histaminmethyltransferase-Aktivität in diesen Organen

Der Histamingehalt nimmt beim Menschen vom Fundus über den Corpus zum Antrum hin ab und ist auch bei Hund und Schwein im Corpusbereich am höchsten (Abb. 9). Damit besteht zwischen der Höhe des Histamingehalts und der Histaminmethyltransferase-Aktivität im Magen dieser drei Spezies keine direkte Proportionalität. Im Gegenteil konnte im Magen des Hundes und des Schweines eine gegenläufige Korrelation zwischen dem Histamingehalt und der Histaminmethyltransferase-Aktivität festgestellt werden. Der Korrelationskoeffizient betrug beim Hund - 0,63 und beim Schwein - 0,67.

Auch wenn man die untersuchten Hunde- und Schweinemägen in ihren einzelnen Abschnitten oder auch als Ganzes miteinander vergleicht, kann man zwischen Histamingehalt und Histaminmethyltransferase-Aktivität keinerlei Beziehungen finden. Mägen mit hohem Histamingehalt haben also grundsätzlich weder mehr noch weniger Histaminmethyltransferase-Aktivität als solche mit wenig Histamin.

Aus dem oben genannten geht hervor, daß die Verteilung der Histaminmethyltransferase-Aktivität nichts zu tun hat mit der Verteilung des gespeicherten Histamins. Daher ist es sehr wahrscheinlich, daß die Histaminmethyltransferase im Gegensatz zu dem in der Magenschleimhaut gespeicherten Histamin nicht oder nicht ausschließlich in Mastzellen lokalisiert ist (HÄKANSON et al., 1969; LORENZ et al., 1969, 1969 a, 1969 b, 1969 c). Daraus ergeben sich zwei theoretische Überlegungen: Erstens gibt es für das in der Magenschleimhaut vorhandene Histamin einen Speicherort, nämlich die Mastzelle, und einen Wirkort, der mit der Struktur verknüpft ist, an die auch die Histaminmethyltransferase-Aktivität gebunden ist. Zweitens gibt es neben dem gespeicherten Histamin, welches, solange es im Speicherort verbleibt, unwirksam ist, noch ein anderes,

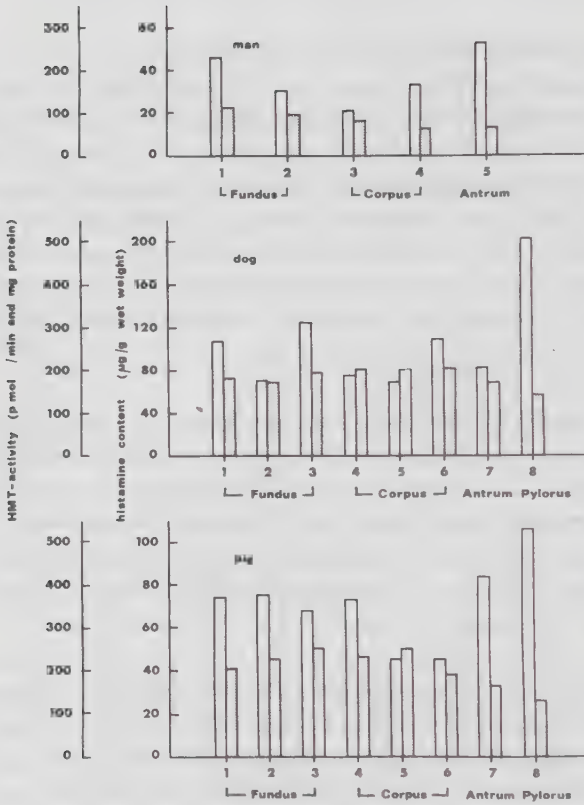


Abb. 9:

Verteilung der Histaminmethyltransferase und des Histamins in der Magenschleimhaut des Menschen, Hundes und Schweines.

frei verfügbares und damit physiologisch wirksames Histamin, welches der Inaktivierung durch die Histaminmethyltransferase ausgesetzt ist.

3.1.4. Hemmung der Histaminmethyltransferase-Aktivität aus diesen Organen durch das Antimalariamittel Amodiachin

Durch Amodiachin wurde die Histaminmethyltransferase aus der Corpusschleimhaut des Menschen und des Hundes und der Antrumschleimhaut des Schweines stark gehemmt (Abb. 10). Beim Schwein war die I.D.₅₀ um eine Zehnerpotenz niedriger als bei Mensch und Hund, mit rohen und ungereinigten Enzympräparationen wurde am Schweineantrum der gleiche Hemmgrad erzielt (I.D.₅₀ beim Enzym nach DEAE-Cellulose $2,5 \times 10^{-6} \text{ M}$, vergleiche Abb. 10). Eine 30-minütige Vorinkubation von Amodiachin alleine mit dem Enzym bei 37°C erhöhte die Wirksamkeit des Hemmstoffes unter $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ um 20%.

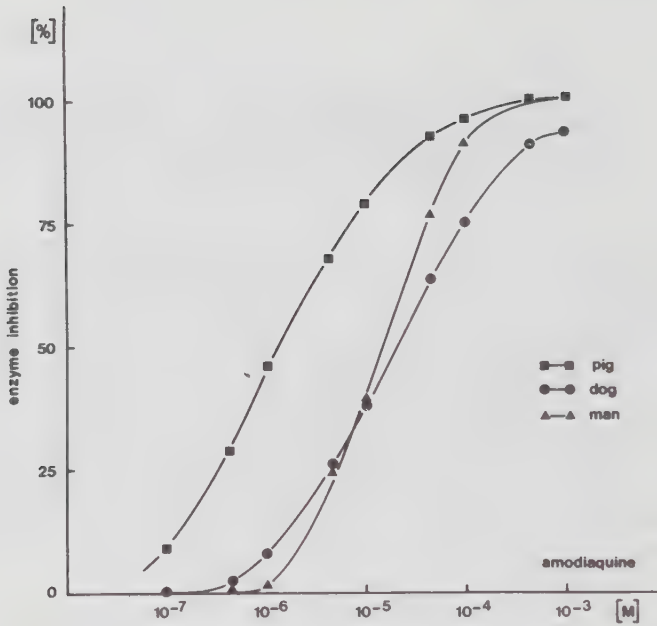


Abb. 10:

Hemmung der Histaminmethyltransferase der Magenschleimhaut durch Amodiachin.

Die Enzymaktivität in Abwesenheit des Inhibitors, welche 100 entsprach, waren 0,3 nmol Methylhistaminbildung /min x mg Protein beim Schwein, 0,25 nmol/min x mg Protein beim Hund und 0,1 nmol/min x mg Protein beim Menschen. Mittelwerte von 3 Bestimmungen. Sonstige Bedingungen siehe Material und Methode.

3.2. Potenzierung der stimulierten Magensaftsekretion durch den Histaminmethyltransferase-Hemmstoff Amodiachin

3.2.1. Potenzierung der Histamin-stimulierten Magensaftsekretion

Bei den 6 Hunden, bei denen Sekretionsstudien mit einer maximalen Stimulierung von 40 μ g/kg Histamin mit einer ausgezeichneten Reproduzierbarkeit (s. Abb. 6) durchgeführt wurde, betrug die Gesamtmagensaftsekretion 56 ml $\pm$ 14 und 6,8 meq $\pm$ 2,4 ($\bar{x} \pm$ S.D.).

Die Gesamtmagensaftsekretion wurde durch Amodiachin in steigenden Dosen erheblich vermehrt (Abb. 11), das Sekretvolumen um maximal 40%, die Säuremenge sogar um 80% bei einer optimalen Dosis von 2 mg/kg Amodiachin. Bei 3 mg/kg trat bereits eine Wirkungsumkehr auf, 5 mg/kg hemmten bei 3 Tieren bereits die Magensaftsekretion zu 50%. Eventuell dürfte es sich hierbei um toxische Dosen des Amodiachin handeln.

Die Gipfelsekretion nach Histamininjektion wurde durch Amodiachin nicht mehr und nicht weniger erhöht als die Gesamtsekretion. In insgesamt 11 Versuchen betrug die Steigerung der Gipfelsekretion durch 2 mg/kg Amodiachin beim Volumen 37 $\pm$ 18%, bei der Säure 82 $\pm$ 31%, die Steigerung der Gesamtsekretion 36 $\pm$ 16% und 80 $\pm$ 30%. Dieser Befund spricht dafür, daß die histaminstimulierte Sekretion durch Amodiachin zwar gesteigert, aber nicht verlängert wird. In der Tat dauert die Gesamtsekretion nach Histamin plus Amodiachin nicht länger als 120 - 150 Minuten, was auch für Histamin allein gemessen wurde.

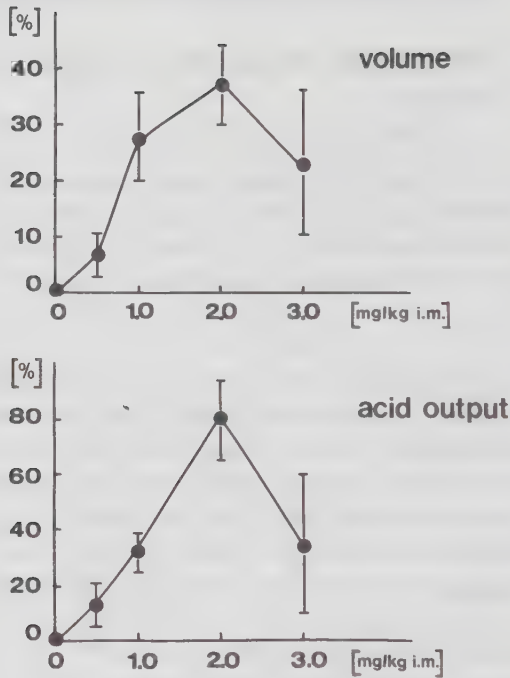


Abb. 11:

Steigerung bzw. "Potenzierung" der Histamin-grundstimuliert
Sekretion in der Heidenhaintasche des Hundes durch Amodiachin

Durchschnittswerte $\pm$ S.E.M. von 6 - 11 Tests pro Amodiachin
dosis. Die Dosis von Histamindihydrochlorid betrug $40 \mu\text{g/kg}$
i.m. Die angegebenen Werte stellen die Gesamtsekretion der
Pouch pro Sekretionsperiode dar. "Null" bedeutet die mit
Histamin maximal stimulierte Sekretion ohne zusätzliche In-
jektion von Amodiachin (56 ± 14 ml und $6,8 \pm 2,4$ meq/Sekre-
tionsperiode).

Weitere Angaben siehe unter Material und Methode.

3.2.2. Potenzierung der Betazol-stimulierten Magensaftsekretion

Auch die histaminanaloge Substanz Betazol, die lange Zeit zur Magensaftsekretionsstimulierung beim Menschen verwandt wurde (Zusammenfassung s. FEIFEL et al., 1972; LANDANO, 1966), wurde an zwei Hunden zusammen mit Amodiachin verabreicht. In insgesamt 4 Versuchen wurde die durch 2 mg/kg Betazol (i.m.) maximal stimulierte Gesamtsekretion durch 2 mg/kg Amodiachin im Volumen um $24 \pm 10\%$, in der Säuremenge um $45 \pm 18\%$ gesteigert (Gesamt volumen 68 ml, Gesamtsäureausstoß 7,5 meq/Sekretionsphase). Die Steigerung der Gipfelsekretion durch Amodiachin war von der Steigerung der Gesamtsekretion nicht signifikant verschieden.

3.2.3. Potenzierung der Pentagastrin-stimulierten Magensaftsekretion

Bei 9 Hunden, deren maximale Magensäure-Antwort auf Pentagastrin durch 6 $\mu\text{g/kg}$ erreicht wurde, betrug das Gesamtvolumen an Magensaft 28 ± 12 ml/Sekretionsperiode und der Gesamtsäureausstoß $3,5 \pm 1,6$ meq/Sekretionsperiode, wogegen eine Gipfelsekretion von 24 ± 11 ml/h und von $3,2 \pm 1,1$ meq/h Säure festgestellt wurde ($\bar{x} \pm \text{S.D.}$ von 9 Durchschnittswerten der einzelnen Hunde). Zwei Hunde, die sowohl mit Histamin als auch mit Pentagastrin stimuliert wurden, produzierten doppelt soviel Magensaft und Säure nach Injektion von 40 $\mu\text{g/kg}$ Histamin als nach einer maximalen Stimulation durch 6 $\mu\text{g/kg}$ Pentagastrin. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit der von Andersson und Grossman (ANDERSSON & GROSSMAN, 1965), die die beiden Stimulantien den Tieren durch i.v.-Infusionen verabreichten. Amodiachin in einer Dosis von 2 mg/kg steigerte die Pentagastrin-stimulierte Magensaftsekretion beachtlich (Gesamtsekretion) (Abb. 12). Die Injektion von 0,25 mg/kg zeigte keine Wirkung, wogegen bei 3,0 mg/kg die Steigerung der Magensekre-

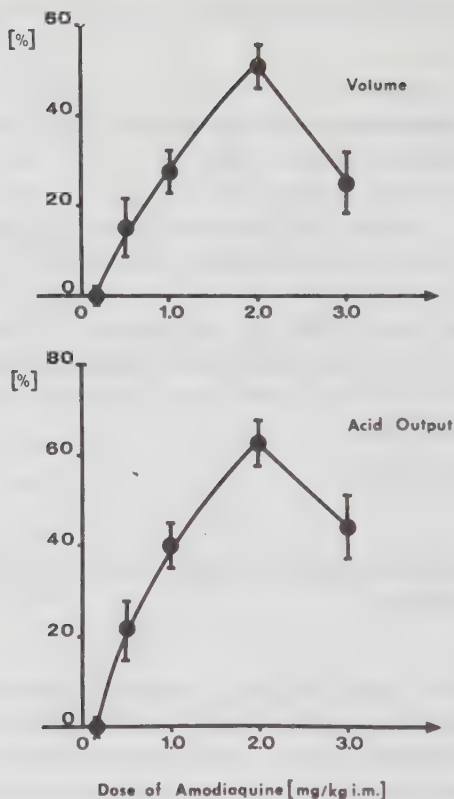


Abb. 12:

Steigerung bzw. "Potenzierung" der Pentagastrin-grundstimulierten Sekretion in der Heidenhaintasche des Hundes durch Amodiachin

Mittelwerte $\pm$ S.E.M. von 9 - 11 Tests pro Amodiachineinzeldosis. Die Pentagastrindosis betrug $6 \mu\text{g/kg i.m.}$ Die angegebenen Werte stellen die Gesamtsekretion der Pouch pro Sekretionsperiode dar. "Null" bedeutet die Pentagastrin-stimulierte Sekretion ohne zusätzliche Injektion von Amodiachin ($28 \pm 12 \text{ ml}$ und $3,5 \pm 1,6 \text{ meq/Sekretionsperiode}$).

Weitere Angaben siehe unter Material und Methode.

tion schon wieder nachließ. Unter Amodiachin war die Steigerung des Säureausstoßes größer als die Steigerung des Volumens (Abb. 12). Bei den beiden Hunden, die sowohl Pentagastrin als auch Histamin erhielten, war die prozentuale Wirkung von Amodiachin auf die Histamin-stimulierte Sekretion dieselbe wie auf die Pentagastrin-stimulierte Sekretion.

Im Gegensatz zur Histamin-stimulierten Sekretion steigerte Amodiachin die Pentagastrin-stimulierte Gesamtsekretion mehr als die Gipfelsekretion. In 11 Versuchen an 4 Hunden wurde das Gipfelvolumen des Magensaftes um $51 \pm 32\%$ durch 2 mg/kg Amodiachin erhöht, wogegen das Gesamtvolumen um $73 \pm 43\%$ zunahm ($p < 0,005$, im t-Test für Paare). In denselben Versuchen war der Gipfelsäureausstoß $73 \pm 43\%$ höher als nach Pentagastrin allein, doch der Gesamtsäureausstoß wurde sogar um $116 \pm 37\%$ ($p < 0,02$, im t-Test für Paare) gesteigert.

Nicht nur die maximale sondern auch die submaximale Magensekretion, die auf Pentagastrin folgte, konnte durch verschiedene Dosen Amodiachin gesteigert werden. Die prozentuale Zunahme war sogar höher als nach maximaler Stimulation. In Kombination mit niedrigeren Dosen Pentagastrin waren von Amodiachin höhere Dosen notwendig, um eine optimale Steigerung zu erzielen.

4. Diskussion

4.1. In-vitro-Wirkung von Amodiachin

Neben vielen anderen Wirkungen wie die Bindung von Melanin und Nukleinsäuren, Hemmung verschiedener Immunmechanismen, Stabilisierung von lysosomalen Membranen, Antihistaminwirkung auf den H_1 -Rezeptor und entzündungshemmende Wirkungen (SAMS, 1967), wird von den Antimalariamitteln vom Typ des 4-Aminochinolin berichtet, daß sie starke in-vitro-Inhibitoren der Catechol-O-Methyltransferase (COHN, 1965) und Histamin-N-Methyltransferase (COHN, 1965) seien. Die I.D.₅₀-Werte waren um 1 - 3 Größenordnungen kleiner als die anderer Inhibitoren der Histamin-N-Methyltransferase wie Chlorpromazin und Bromlysergsäurediäthylamid (BROWN et al., 1959), Kupferionen (GUSTAFSSON & FORSHELL, 1964; LINDAHL, 1960), Antihistaminika vom H_1 -Rezeptor-Typ (NETTER & BODENSCHATZ, 1967; COHN & WYNN, 1968; TAYLOR & SNYDER, 1972; BARTH et al., 1973) H_2 -Rezeptor-Antagonisten (BARTH et al., 1973) und einige methylierte Histamine (BARTH et al., 1973 a).

Deshalb untersuchten wir als erstes die Wirkung von Amodiachin auf die Magen-Histaminmethyltransferase und fanden eine starke Hemmung dieses Enzyms beim Menschen, Hund und Schwein in vitro, wobei die fluorometrische Bestimmung benutzt wurde (Abnahme der Histaminkonzentration in Gegenwart von S-Adenosyl-L-methionin) (LORENZ et al., 1971; BARTH et al., 1972) wie auch die Isotopenmethode (Bildung von ^{14}C -1-Methylhistamin) (BARTH et al., 1972 a).

4.2. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Histamin-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin

In vivo wurden Untersuchungen über die Hemmung der Histaminmethyltransferase durch Amodiachin bei Ratten durchgeführt, indem die tägliche Histaminausscheidung im Urin gemessen wurde (COHN, 1966; KIM & COHN, 1966). Die Zunahme der Histaminausscheidung, die beobachtet wurde, mußte primär als Hemmung der renalen Histaminmethyltransferase interpretiert werden, da hohe Aktivitäten dieses Enzyms in der Rattenniere gefunden wurden. Doch diese Ergebnisse betonten, daß Amodiachin wirklich fähig war, die Histaminmethyltransferase in vivo zu hemmen. Deshalb könnte die Steigerung der Histaminstimulierten Magensekretion bei Hunden durch Amodiachin auch als eine Hemmung der hohen Aktivitäten dieses Enzyms in der Fundus- und Corpusschleimhaut erklärt werden (LORENZ et al., 1970, 1970 a).

4.3. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Betazol-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin

Die Wirkung von Amodiachin auf die Betazol-stimulierte Magensekretion kann ebenfalls als eine Hemmung der Histaminmethyltransferase in vivo angesehen werden, weil Betazol Histamin in einem mehr oder weniger starken Ausmaß freisetzen kann, abhängig von der untersuchten Spezies (STUERIN et al., 1965; LORENZ et al., 1970 d). Über eine Inaktivierung von Betazol durch die Magen-Histaminmethyltransferase ist nichts bekannt.

4.4. Mögliche Erklärung der Potenzierung der Pentagastrin-stimulierten Magensaftsekretion durch Amodiachin

Ebenso wie die Steigerung der Histamin- und Betazol-stimulierten Magensekretion durch Amodiachin kann auch die Zunahme der Pentagastrin-stimulierten Magensekretion durch Amodiachin aufgrund seiner Wirkung auf die Magen-Histaminmethyltransferase interpretiert werden. Eine Voraussetzung für diese Hypothese wäre die Existenz von pharmakologisch oder wenigstens physiologisch wirksamen Histamin in der unmittelbaren Nachbarschaft der Parietalzellen zum Zeitpunkt, zu dem Pentagastrin die Magensekretion stimuliert. Das Vorkommen großer Mengen Histamin im Magen, welches bei Mensch und Hund vorwiegend in Mastzellen gespeichert wird (LORENZ et al., 1969 a; AURES et al., 1968; HÅKANSON et al., 1970; LORENZ et al., 1969 b), kann nicht als ein Argument zugunsten der Möglichkeit aufgefaßt werden, daß freies Histamin für die säurebildenden Zellen zugänglich sein könnte. Aber im speziellen Fall von Pentagastrin beschäftigten sich zwei Veröffentlichungen mit den Ergebnissen über die Freisetzung von Histamin in der Magenschleimhaut durch dieses synthetische Hormon bei Mensch und Ratte:

- (1) Bei Versuchspersonen nahm die Histaminfreisetzung im Magensaft um durchschnittlich 110% nach der i.m.-Injektion von 6 µg/kg Pentagastrin zu (LORENZ et al., 1970 d).
- (2) Bei Ratten nahm der Histamingehalt der Magenschleimhaut nach Injektion von Pentagastrin langsam ab (JOHNSON et al., 1969).

In diesem Zusammenhang darf nicht vergessen werden, daß bei Ratten als der einzig bekannten Spezies Histamin in der Magenschleimhaut vorwiegend in den enterochromaffinen und enterochromaffin-ähnlichen Zellen lokalisiert ist (HÅKANSON et al., 1970).

Histaminfreisetzung in der Magenschleimhaut von Hunden während der Pentagastrin-stimulierten Magensekretion - welches nicht

notwendigerweise bedeutet Histaminfreisetzung durch Pentagastrin - ist eine Möglichkeit, die nicht ausgeschlossen werden kann wegen der Ergebnisse bei den beiden oben genannten Spezies, soweit sie bisher untersucht worden sind.

Die Freisetzung von Histamin während der Pentagastrin-stimulierten Magensekretion oder gar durch Pentagastrin schließt nicht unbedingt ein, daß Pentagastrin oder Gastrin auf die Parietalzellen nur über diesen Mechanismus wirkt. Nahezu alle natürlicherweise vorkommenden oder synthetischen sekretionsstimulierenden Mittel, die die Magensekretion anregen, verstärken sich gegenseitig, wie an verschiedenen Spezies untersucht wurde (ROTH & IVY, 1944; PAYNE & KAY, 1961; PASSARO et al., 1963; GILLESPIE & GROSSMAN, 1964; COHEN et al., 1971; OLBE, 1966; KONTUREK & OLESKY, 1967; CHECKETTS et al., 1968; JOHNSON & GROSSMAN, 1969; COOKE, 1969; BROOKS & GROSSMAN, 1970; COOKE, 1970; VARRO et al., 1971; DINBAR & GROSSMAN, 1972). Dieselben Ergebnisse wurden erzielt, als verschiedene endogene Stimulationsmechanismen der Magensekretion untereinander oder mit exogenen natürlichen oder synthetischen sekretionsstimulierenden Mitteln kombiniert wurden (OLBE, 1966; BROOKS & GROSSMAN, 1970; COOKE, 1970; CURT et al., 1971; JORDAN, 1967; GREGORY, 1958; GROSSMAN, 1961; QUINTANA et al., 1965).

Übereinstimmend mit Goodman und Gillman (GOODMAN & GILLMAN, 1971) sollte der Ausdruck "Potenzierung" nicht mehr zur Definition von synergistischen Wirkungen zweier Pharmaka gebraucht werden. Veröffentlichungen in der Gastroenterologie und Physiologie, größtenteils in den letzten Jahren erschienen, beschäftigen sich mit diesem Problem, nämlich den Definitionen für potenzierende Wirkungen von Magensekretionsstimulantien (GROSSMAN, 1969; MAKHLOUF & BLUM, 1972) in Anlehnung an Gaddum's Definition (GADDUM, 1959) und Definitionen im Sinne des Terminus "echte Aktivierung", wie er in der Enzymkinetik gebraucht wird. Makhlof (MAKHLOUF et al., 1968),

der Eadie-Hofstee-Kurven für die dosisabhängigen Beziehungen benutzte, fand bei Arbeiten mit gastrointestinalen Hormonen, wie gefordert, daß eine echte Potenzierung einen Effekt der Kombination zweier Pharmaka impliziert, welcher größer ist als das berechnete Maximum eines dieser Pharmaka ($C_{\max}$ entspricht dem $V_{\max}$ bei Enzymkinetiken). In Übereinstimmung mit den beiden Kriterien von Grossman (DINBAR & GROSSMAN, 1972; GROSSMAN, 1969) und Makhlof (MAKHLouF & BLUM, 1972; MAKHLouF et al., 1968) ist die Zunahme der maximalen Sekretionsantwort auf Pentagastrin durch Amodiachin als "echte" Potenzierung anzusehen. Die Potenzierung für die kombinierte Anwendung von Histamin und Pentagastrin bei Hunden mit Magen-fistel (ganzer Magen) wurde bereits beschrieben (BROOKS et al., 1970).

4.5. Andere mögliche Mechanismen der Wirkung des Amodiachins

Neben den oben diskutierten Mechanismen für die Wirkung von Amodiachin auf die Magensekretion müssen noch andere Erklärungen als nur Hemmung der Magen-Histaminmethyltransferase diskutiert werden. Da von Chloroquin berichtet wurde, es habe eine eserinähnliche Wirkung auf den arteriellen Blutdruck (GARCIA et al., 1971), mußte die Möglichkeit ausgeschlossen werden, daß Amodiachin sowohl die Histamin- als auch die Pentagastrin-stimulierte Magensekretion durch eine (vielleicht sogar unterschwellige) parasymphikomimetische Wirkung steigert. Jedoch im Gegensatz zu Prostigmin und Carbachol konnten bei Amodiachin mit allen (und sogar hohen) Dosen weder überhaupt irgendeine Magensekretion, noch eine Speichelsekretion, noch eine Steigerung der Acetylcholin-induzierten Speichelsekretion (TROIDL et al., 1973) beobachtet werden. Diese Untersuchungsergebnisse weisen darauf hin, daß die synergistischen Wirkungen von Acetylcholin und Amodiachin auf den Blutdruck bei Hunden spezifisch für dieses Versuchsbeispiel sind.

Weiterhin muß auch eine Erklärung für die spezifische Wirkung von Amodiachin auf die verschiedenen untersuchten Drüsen gefunden werden. Seitdem die Histaminmethyltransferase in den Speicheldrüsen nachgewiesen werden konnte (LORENZ et al., 1970 a; GASTPAR & LORENZ, 1971), durfte man eine ähnliche Wirkung von Amodiachin am Magen erwarten. Es ist aber bekannt, daß Amodiachin kein wirkungsvoller Inhibitor der Histaminmethyltransferase in allen Geweben in vivo ist, z.B. nicht im Gehirn (SCHWARTZ & ANDRE, 1973), möglicherweise, weil es nicht die Orte erreicht, wo das Enzym lokalisiert ist.

Eine andere Erklärung könnte sein, daß die Magensekretion an wachen Tieren beobachtet wurde, die Speichelsekretion jedoch an anästhesierten Hunden. In diesem Zusammenhang sollte erwähnt werden, daß auch ein anderer in-vitro- (BARTH et al., 1973 a) und in-vivo-Hemmstoff (REILLY & SCHAYER, 1970) der Histaminmethyltransferase, nämlich das Reaktionsprodukt 1-Methylhistamin, die Speichelsekretion in der Glandula submandibularis bei anästhesierten Katzen (ERJAVEC et al., 1965) und Hunden (LORENZ et al., 1973) stimuliert. Deshalb scheint die Anästhesie nicht der Grund für eine unterschiedliche Wirkung von Amodiachin auf die Speicheldrüsen- und Magensekretion zu sein.

5. Zusammenfassung

In der Magenschleimhaut von Mensch, Hund und Schwein wurde die Histaminmethyltransferase-Aktivität mit einer modifizierten fluorometrischen Methode bestimmt. Bei allen drei Spezies fällt die Enzymaktivität vom Fundus zum Corpus ab und steigt zum Pylorus wieder an. Der absolut höchste Wert wurde mit 590 pmol/min x mg Protein im Antrum einer Schweinemagenmucosa gefunden. Eine Beziehung zwischen der Dichte der Parietalzellen und der Aktivität der Histaminmethyltransferase besteht nicht.

An 2 Hundemägen wurde die Histaminmethyltransferase-Aktivität in Schleimhaut und Muskulatur verglichen und gezeigt, daß die Histaminmethyltransferase in der Muskularis im Gegensatz zur Mucosa über alle Magenabschnitte gleichmäßig verteilt ist.

Außerdem konnte an Magenschleimhaut von Mensch, Hund und Schwein gezeigt werden, daß zwischen Histamingehalt und Histaminmethyltransferase-Aktivität keinerlei Beziehungen bestehen.

Die Hemmung der Histaminmethyltransferase der Magenschleimhaut von Mensch, Hund und Schwein wurde mittels einer Isotopenmethode bestimmt. Dabei erwies sich Amodiachin als starker Hemmstoff der Histaminmethyltransferase ($I.D._{50} = 10^{-5}M$). An 13 Hunden mit der Heidenhaintasche wurde die maximale Sekretionsantwort der Tasche auf Histamin (40 $\mu g/kg$ i.m.), Betazol (2 mg/kg i.m.) und Pentagastrin (6 $\mu g/kg$ i.m.) durch verschiedene Dosen Amodiachin gesteigert. Die Sekretionssteigerung war einerseits von der Amodiachindosis abhängig andererseits von der benutzten Dosis Histamin, Betazol oder Pentagastrin. Die optimale Dosis von Amodiachin war 2 mg/kg, die maximale Steigerung 80%. Eine Erklärung dieser Wirkung von Amodiachin durch parasympathomimetische Effekte erscheint unwahrscheinlich, da Amodiachin allein die Magensekretion nicht zu stimulieren vermag.

6. Literaturverzeichnis

AMURE, B.O. & GINSBURG, M. (1964)

Effects of chlorpromazine and bromo lysergic acid diethylamide on gastric secretion of acid induced by histamine in rats.

Br.J.Pharmac. 22, 520 - 526

ANDERSSON, S. & GROSSMAN, M.I. (1965)

Effect of vagal denervation of pouches on gastric secretion in dogs with intact or resected antrum.

Gastroenterology 48, 449

AURES, D.; HÅKANSON, R.; ÖWMAN, Ch. & SPORRONG, B. (1968)

Cellular stores of histamine and monoamines in the dog stomach.

Life Sci. 7, 1147

AURES, D.; DAVIDSON, W.B. & HÅKANSON, R. (1969)

Histidine decarboxylase in gastric mucosa of various mammals.

Europ.J.Pharmac. 8, 100 - 107

AXELROD, J. & VESELL, E.S. (1970)

Heterogeneity of N- and O-methyltransferase.

Mol.Pharmacol. 6, 78 - 84

AZIZ, A.A. (1961)

Histamine inactivation in rat-kidney slices.

Biochem.J. 80, 50

BARON, J.H. (1970)

The clinical use of gastric funktion tests.

Scand.J.Gastroent., Suppl. 6, 9

- BARTH, H.; LORENZ, W.; GOECKE, K.; HERRMANN, K.; SEIDEL, W.
& TROIDL, H. (1972)
Histamine methyltransferase in man, dog and pig: distribution
purification and properties.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 274, Suppl.R. 14
- BARTH, H.; TROIDL, H.; GOECKE, K.; HERRMANN, K.; SEIDEL, W.
& LORENZ, W. (1972 a)
Histamine methyltransferase: distribution, purification
and inhibition in vitro and in vivo.
J.Pharmacol.(Paris) 3, 521
- BARTH, H.; NIEMEYER, I. & LORENZ, W. (1973)
Studies on the mode of action of histamine H_1 - and H_2 -
receptor antagonists on gastric histamine methyltransferase
Agents Actions 3, 138 - 147
- BARTH, H.; LORENZ, W. & NIEMEYER, I. (1973 a)
Inhibition and activation of histamine methyltransferase
by methylated histamines.
Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 354, 1021 - 1026
- BARTH, H.; OSTBERG, R. & LORENZ, W. (1974)
Persönl. Mitteilung
- BAUDRY, M.; CHEST, F. & SCHWARTZ, J.-C. (1973)
Studies on S-adenosylhomocysteine inhibition of histamine
transmethylation in brain.
J.Neurochem. 20, 13 - 21
- BROOKS, A.M. & GROSSMAN, M.I. (1970)
Maximal acid responses of pavlov pouches to food and
histamine.
Gut 11, 153
- BROWN, D.D.; TOMCHICK, R. & AXELROD, J. (1959)
The distribution and properties of a histamine-methylating
enzyme.
J.Biol.Chem. 234, 2948

CHECKETTS, R.G.; GILLESPIE, I.E. & KAY, A.W. (1968)

Insulin potentiation of the augmented histamine response.
Gut 2, 863

CODE, C.F. (1956)

Histamine and gastric secretion. Ciba foundation symposium
on histamine,
London: I. & A. Churchill, p. 189

CODE, C.F.; MASLINSKI, S.M.; MOSSINI, F. & NAVERT, H. (1971)

Methylhistamines and gastric secretion.
J.Physiol.(London), 217, 557 - 571

COHEN, M.M.; HOLUBITZKY, T. & HARRISON, D.B. (1971)

Caffeine and pentagastrin stimulation of human gastric
secretion.
Gastroenterology 61, 440

COHN, V.H. (1965)

Inhibition of histamine methylation by antimalarial drugs.
Biochem.Pharmac. 14, 1686 - 1688

COHN, V.H. (1966)

Inhibition of histamine metabolism (methylation) by anti-
malarial drugs.
Fed.Proc. 23, 691

COHN, V.H. & WYNN, W. (1968)

Inhibition of histamine metabolism by antihistaminic drugs.
Fed.Proc. 27, 243

COOKE, A.R. (1969)

Potentiation of acid secretion in dogs.
Am.J.Physiol. 216, 969

COOKE, A.R. (1970)

Potentiation of acid output in man by a distention stimulus.

Gastroenterology 58, 633

CURT, J.R.N.; ISAZA, J.; WOODWARD, E.R. & DRAGSTEDT, L.R. (1971)

Potentiation between intestinal and gastric phases of acid secretion in heidenhain pouches.

Arch.Surg. 103, 709

DENCKER, H.; KAHLSON, G.; KOCKUM, I.; NARYD, C. & ROSENGREN, (1973)

Histamine metabolism in human gastric mucosa.

Clinical Science and Molecular Medicine 45, 225 - 231

DE VITO, R. & HARKINS, H.N. (1958)

Techniques in heidenhain pouch experiments.

J.appl.Physiol. 14, 138 - 139

DINBAR, A. & GROSSMAN, M.I. (1972)

Interaction of stimulations of acid secretion in cat.

Gastroenterology 62, 242

DRAGSTEDT, L.R.; HAYMOND, H.E. & ELLIS, J.C. (1933)

Cannula for gastrostomy and enterostomy.

Surg.Gynec.Obstet. 56, 799 - 801

DU VIGNEAUD, V.; RACHELE, J.R. & WHITE, A.M. (1956)

A crucial test of transmethylation in vivo by intramolecular isotopic labelling.

J.Amer.Chem.Soc. 78, 5131 - 5132

EMAS, S.; SVAN, K.G. & JACOBSON, G.D. (1967)

Methodes of studying gastric secretion.

Handbook of physiology, sect. 6 vol. II, Williams & Wilkins, Baltimore, p. 743

ERJAVEC, F.; BEAVEN, M.A. & BRODIE, B.-B. (1965)

Role of histamine and methylhistamine in salivation.
Pharmacologist 7, 153

FEIFEL, G.; LORENZ, W., HEIMANN, A. & WÖRSCHING, J. (1972)

Bestimmung der basalen und maximal stimulierten Magen-
sekretion: kritische Untersuchungen zur Durchführung,
Auswertung und Beurteilung von Magensekretionstesten.
Klin.Wschr. 50, 413

GADDUM, J.H. (1959)

Pharmacology

(Oxford University Press, London, New York, Toronto) p. 504

GARCIA, M.; MIYARES, C. & SAINZ, F. (1971)

An eserine-like action of chloroquine.
Can.J.Physiol.Pharmac. 49, 492

GASTPAR, H. & LORENZ, W. (1971)

Histaminstoffwechsel in der Glandula submandibularis und
in der Glandula parotis des Menschen und verschiedener
Säugetiere.

Arch.klin.exp.Ohr.-Nas.-Kehlkopfheilk. 198, 293

GILLESPIE, I.E. & GROSSMAN, M.I. (1964)

Potentiation between urecholine and gastric extract and
between urecholine and histamine in the stimulations of
heidenhain pouches.

Gut 2, 71

GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. (1971)

The pharmacological basis of therapeutics.

4th edition. The Mac Millan Company, London, Toronto

24, 1095 - 1123

GREGORY, R.A. (1950)

Some factors influencing the passage of fluid through
intestinal loops in dogs.

J.Physiol.(London) 111, 119 - 137

Gregory, R.A. (1958)

Gastric secretory responses after portal venous ligation

J.Physiol.(London) 144, 123 - 137

GROSSMAN, M.I. (1961)

Stimulation of secretion of acid by distention of denervated
fundic pouches in dogs.

Gastroenterology 41, 385 - 390

GROSSMAN, M.I. (1967)

Neural and humoral stimulation of gastric secretion of
acid.

In: Handbook of physiology, sect. 6: Alimentary canal
(ed. C.F. Code), Baltimore, Williams & Wilkins Co., p.

GROSSMAN, M.I. (1969)

Potentiation, a reply.

Gastroenterology 55, 815

GUSTAFSSON, A. & FORSHELL, G.P. (1964)

Studies on the enzymic methylation of histamine.

Acta Chem.scand. 18, 2069

HÅKANSON, R.; LILJA, B. & ÖWMAN, Ch. (1969)

Cellular localization of histamine and monoamines in the
gastric mucosa of man.

Histochemie 18, 74 - 86

HÅKANSON, R.; ÖWMAN, Ch.; SJÖBERG, N.-O. & SPÖRRING, B. (1971)

Amine mechanisms in enterochromaffin and enterochromaffin-like
cells of gastric mucosa in various mammals.

Histochemie 21, 189

HÅKANSON, R. & LIEDBERG, G. (1971)

Evidence against histamine as final chemostimulator of gastric acid secretion.

Amer.J.Physiol. 221, 641 - 643

JOHNSON, L.R. & GROSSMAN, M.I. (1969)

Potentiation of gastric acid response in the dog.

Gastroenterology 56, 687

JOHNSON, L.R.; JONES, R.S.; AURES, D. & HÅKANSON, R. (1969)

Effect of antrectomy on gastric histidine decarboxylase activity in the rat.

Amer.J.Physiol. 216, 1051

JORDAN, P.H. (1967)

Relationship between stimulating mechanisms of gastric secretion in dogs.

JAMA 199, 399

KAHLSON, G. & ROSENGREN, E. (1971)

Biogenesis and physiology of histamine.

E. Arnold, London, p. 95 - 162

KAHLSON, G.; ROSENGREN, E.; SVAHN, D. & THUNBERG, R. (1964)

Mobilization and formation of histamine in the gastric mucosa as related to acid secretion.

J.Physiol.(London) 174, 400 - 416

KAHLSON, G.; ROSENGREN, E. & THUNBERG, R. (1967)

Accelerated mobilization and formation of histamine in the gastric mucosa evoked by vagal excitation.

J.Physiol.(London) 190, 455 - 463

KARJALA, S.A. & TURNQUEST, B.W. (1955)

The characterisation of two methylimidazoleacetic acid
as radioactive histamine metabolites.

J.Amer.Chem.Soc. 77, 6358 - 6359

KARJALA, S.A.; TURNQUEST, B.W. & SCHAYER, R.W. (1956)

Urinary metabolites of radioactive histamine.

J.Biol.Chem. 219, 9 - 12

KIM, K.S. & COHN, V.H. (1966)

Inhibition of histamine metabolism.

Pharmacologist 8, 185

KIM, K.S.; BACKUS, B.; HARRIS, H. & ROURKE, P. (1969)

Distribution of diamine oxidase and imidazole-N-methyl
transferase along the gastrointestinal tract.

Comp.Biochem.Physiol. 31, 137 - 145

KONTUREK, S.J. & OLESKY, J. (1967)

Potentiation between pentapeptid (ICI 50123) and histamine
in the stimulation of gastric secretion in man.

Gastroenterology 53, 912

KUSCHE, J.; LORENZ, W.; HAHN, H. & WERLE, E. (1969)

Occurrence and properties of diamine oxydase in salivary
glands and gastric mucosa of man and other mammals.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 264, 265

LANDANO, O.M. (1966)

Comparison between histalog and histamine as stimulant
of maximal gastric secretion in man.

Gastroenterology 50, 653 - 656

LICK, R.F. & BALSER, D. (1967)

Die Geschichte der angewandten Magenphysiologie.
Wissenschaftliches Beiblatt zur Materio Medica,
Nordmark N. 60, 68 - 84

LINDAHL, K.M. (1958)

On the biological methylation of histamine.
Acta Chem.Scand. 12, 1690 - 1691

LINDAHL, K.M. (1958 a)

Methylation of histamine by mouse liver in vitro.
Acta Physiol.Scand. 43, 254 - 261

LINDAHL, K.M. (1960)

The histamine methylating enzyme system in liver.
Acta Physiol.Scand. 49, 144

LINDAHL-KIESSLING, K.M. (1962)

On the biological methylation of histamine. 5.
Inhibition by histamine analogues.
Acta Chem.Scand. 16, 2293 - 2294

LINDBERG, S.; LINDELL, S.-E. & WERTLING, H. (1963)

Formation and inactivation of histamine by human
foetal tissues invitro.
Acta Abst.Gyn.Scand. 42, 49 - 58

LORENZ, W. & PFLEGER, K. (1968)

Stoffwechsel und physiologische Funktion von Histamin
im Magen.
Klin.Wschr. 46, 57 - 71

LORENZ, W.; HALBACH, St.; GERANT, M. & WERLE, E. (1969)

Specific histidine decarboxylase in the gastric mucosa of
man and other mammals: Determination, location and properti
Biochem.Pharmacol. 18, 2625 - 2637

LORENZ, W.; SCHAUER, A.; HEITLAND, St.; CALVOER, R. & WERLE, E.
(1969 a)

Biochemical and histochemical studies on the distribution of histamine in the digestive tract of man, dog and other mammals.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 265, 81

LORENZ, W.; SCHAUER, A.; HEITLAND, St.; MATEJKA, E. & WERLE, E.
(1969 b)

Biochemical and histochemical studies on histamine in the digestive tract: Distribution in different chordates and cellular stores in the dog.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 264, 274

LORENZ, W.; HALBACH, S.; FEIFEL, G.; HAENDLE, H. & WERLE, E.
(1969 c)

Determination, localization and properties of the specific histidine decarboxylase in the gastric mucosa of man and other mammals.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 264, 273 - 274

LORENZ, W.; BARTH, H. & WERLE, E. (1970)

Histamine and histamine methyltransferase in the gastric mucosa of man, pig, dog and cow.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 267, 421 - 432

LORENZ, W.; BARTH, H.; FEIFEL, G. & WERLE, E. (1970 a)

Histamine methyltransferase in salivary glands and gastric mucosa of man, dog, pig and cow.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 266, 395

LORENZ, W.; BENESCH, L.; BARTH, H.; MATEJKA, E.; MEYER, R.; KUSCHE, J.; HUTZEL, M. & WERLE, E. (1970 b)

Fluorometric assay of histamine in tissues and body fluids: choice of the purification procedure and identification in the nanogram range.

Z.Anal.Chem. 252, 94 - 98

LORENZ, W.; KUSCHE, J. & WERLE, E. (1970 c)

Diaminoxidase

in: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl., Bd. I,
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, 630 - 635

LORENZ, W.; FEIFEL, G.; SCHMAL, A.; HUTZEL, M. & WERLE, E.
(1970 d)

Zum Mechanismus der Sekretionsstimulierung und Blutdruck-
senkung durch Histalog (Betazol^R): Histaminliberierung
und Potenzierung der Wirkung von Kininen und Serotonin.
Klin.Wschr. 48, 314 - 315

LORENZ, W.; TROIDL, H.; FEIFEL, G.; HUHN, A.; BARTH, H. &
ROHDE, H. (1971)

Inhibition of gastric histamine methyltransferase by
amodiaquine in vitro and in vivo.
Acta Pharmac.Toxicol. 29, Suppl. 4, 31

LORENZ, W.; MAROSKE, D.; REIMANN-HUHN, A.; SIHLBOM, H. &
KECK, P. (1973)

Histamine, methylated histamines and parasympathomimetic
stimulation of salivary secretion.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch.Pharmak. 277, R44

MAKHOLOUF, G.M.; MAC MANUS, J.P.A. & KNILL, J.R. (1968)

Quantitative aspects of synergism and inhibition of gastric
acid secretion.
Gastroenterology 54, 532

MAKHOLOUF, G.M. & BLUM, A.L. (1972)

Kinetics of the taste response to chemical stimulation:
a theory of acid taste in man.
Gastroenterology 63, 67

MERRIL, C.R.; SNYDER, S.H. & BRADLEY, D.F. (1966)

Inhibition of histamine methyltransferase by serotonin and chlorpromazine derivatives; electronic aspects.
Biochim.Biophys.Acta 118, 316 - 324

MUDD, S.H.; & CANTONI, G.L. (1964)

Biological transmethylation, methyl-group neogenesis and other "one-carbon" metabolic reactions dependent upon tetrahydrofolic acid.
Comprehensive Biochemistry 15, 1 - 47

NETTER, K.J. & BODENSCHATZ, K. (1967)

Inhibition of histamine-N-methylation by some antihistamines.
Biochem.Pharmac. 16, 1627

OLBE, L. (1966)

Potentiation of acid sham feeding responses in pavlov dogs by histamine and by mesenteric-caval vein anastomosis.
Acta Physiol.Scand. 66, 473

O'LEARY, W.M. (1965)

Transmethylation in the biosynthesis of cyclopropane fatty acids.
in: Transmethylation and methionine biosynthesis (Eds. Shapiro & Schlenk) Chicago Press, Chicago and London, pp. 94 - 106

PASSARO, E.P.; GILLESPIE, I.E. & GROSSMAN, M.I. (1963)

Potentiation between gastrin and histamine in stimulation of gastric secretion.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 114, 50

PAYNE, R.A. & KAY, A.W. (1961)

The effect of vagotomy on the maximal acid secretory response to histamine in man.
Clin.Sci. 22, 373

POPIELSKI, L. (1920)

β -Imidazolyläthylamin und die Organextrakte

I. Teil: β -Imidazolyläthylamin als mächtiger Erreger der Magendrüsen.

II. Teil: Einfluß der Säuren auf die die Magensekretion erregende Wirkung der Organextrakte.

Plüger's Arch.Ges.Physiol. 178, 214 - 259

QUINTANA, R.B.; DE LA ROSE, C. & DRAGSTEDT, L.R. (1965)

The effect of endogenous gastrin on histamine-induced gastric secretion.

Am.J.Digest.Dis. 10, 745

REILLY, M.A. & SCHAYER, R.W. (1970)

In vivo studies on histamine catabolism and its inhibition.

Br.J.Pharmac. 38, 478

ROTH, J.A. & IVY, A.C. (1944)

The synergistic effect of caffeine upon histamine in relation to gastric secretion.

Am.J.Physiol. 107, 400

ROTHSCHILD, Z. & SCHAYER, R.W. (1958)

Synthesis and metabolism of a histamine metabolite.

1-methyl-4(β -aminoethyl)-imidazole

Biochem.Biophys.Acta 30, 23 - 27

SAMS, W.M. (1967)

Chloroquine: Mechanism of action.

Mayo Clin.Proc. 42, 300

SCHAYER, R.W.; KENNEDY, J. & SMILEY, R.L. (1953)

Studies on histamine-metabolizing enzymes in intact animals.

J.Bio.Chem. 203, 787 - 793

SCHAYER, R.W.; KENNEDY, J. & SMILEY, R.L. (1953 a)

Studies on histamine-metabolizing enzymes in intact animals. II

J.Biol.Chem. 205, 739 - 748

SCHAYER, R.W. & KARJALA, S.A. (1956)

Ring N-methylation; a major route of histamine metabolism

J.Biol.Chem. 221, 307 - 313

SCHLENK, F. (1965)

The chemistry of biological sulfonium compounds.

Ed. 1. Zechmeister, Springer Verlag Wien 1965

Fortschritte d. Chemie org. Naturstoffe 23, 61 - 112

SCHLENK, F. & ZYDEK, C.R. (1966)

A convenient procedure for the biosynthesis and isolation of ^{35}S -adenosylmethionine.

J.Lab.Comp. 2, 67 - 76

SCHWARTZ, J.-C.; POLLARD, H.; BISCHOFF, S.; REHAULT, M.C. & VERDIERE-SAHUQUE, M. (1971)

Catabolism ^3H -histamine in the rat brain after intracisternal administration.

Eur.J.Pharmac. 16, 326

SCHWARTZ, J.-C. & ANDRE, J.M. (1973)

Studies on the inhibition of histamine methylation in mice.

Agents and Actions 3, 172

SHAPIRO, St.K. & SCHLENK, F. (1960)

The Biochemistry of Sulfonium compounds.

Advances in Enzymology 22, 237 - 280

- SHORE, P.A.; BURKHALTER, A. & COHN, V.H.JR. (1959)
A method for the fluorometric assay of histamine in
tissues.
J.Pharmacol.Exp.Therap. 127, 182 - 186
- SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. (1968)
Statistical methods.
Iowa State University Press, Ames, Iowa 1968
- SNYDER, S.H. & AXELROD, J. (1965)
Sex differences and hormonal control of histamine methyl-
transferase activity.
Biochim.Biophys.Acta 111, 416 - 421
- STUBRIN, M.I.; DYCE, D.; BREM, T.; TECIMER, L.B. & HAVERBACK, B.
(1965)
The effect of gastric secretagogues on gastric tissue
histamine.
Amer.J.digest.Dis. 10, 901 - 908
- SURIYACHAN, D. & THITHAPANDHA, A. (1972)
Distribution and heterogeneity of histamine N-methyltrans-
ferase.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 48, No. 5 1199 - 1207
- TAYLOR, K.M. & SNYDER, S.H. (1972)
Histamine methyltransferase: Inhibition and potentiation
by antihistamine.
Mol.Pharmacol. 8, 300 - 308
- TAYLOR, K.M. (1973)
Comparison of the antihistaminic effect of burinamide
and mepyramine and their effect on the activity of
histamine methyltransferase.
Biochem.Pharmacol. 22, 2775 - 2776

THITHAPANDHA, A. & COHN, V.A. (1970)

Purification and studies on the reaction mechanism of guinea pig brain imidazole N-methyltransferase.
Fed.Prod. 29, 684

THITHAPANDHA, A. & SRINOOT, P. (1972)

Comparative inhibitory effects of vitamins on methylating enzymes.
Comp.Gen.Pharmacol. 3, 139 - 144

THUNBERG, R. (1967)

Localization of cells containing and forming histamine in the gastric mucosa of the rat.
Exp.Cell.Res. 47, 108 - 115

TROIDL, H.; BARTH, H.; LORENZ, W.; RHODE, H. & GOECKE, K.
(1973, in press)

Effect of amodiaquine on gastric histamine methyltransferase and on histamine stimulated gastric secretion.
Br.J.Pharmac. (in press)

VARRO, V.; KISS, J. & MIGNON, M. (1971)

Potentiation of gastric acid response to increasing doses of pentagastrin by subthreshold doses of metacholine in heidenhain pouch dogs.
Biol.Gastro-Enterol. II, 169

WARBURG, O. & CHRISTIAN, W. (1936)

Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten.
Biochem.Z. 287, 291 - 328

WATON, N.G. (1971)

Histamine and the parietal cell.
Amer.J.Digest.Dis. 16, 921 - 933

WEICHSSELBAUM, T.E. (1946)

Protein determination by the biuret method.

Amer.J.Clin.Path. 10, 40 - 46

WERLE, E. & LORENZ, W. (1964)

Histamin und Histidindecaboxylase in Speicheldrüsen
und Magengewebe.

Hoppe-Seyler's Z.physiol.Chem. 338, 251 - 259

WHITE, T. (1961)

Inhibition of the methylation of histamine in cat brain.

J.Physiol. 159, 191

ZAPPIA, V.; ZYDEK-CWICK, C.R. & SCHLENK, F. (1969)

The specificity of S-adenosylmethionine devivatives in
methyl transfer reactions.

J.Biolog.Chem. 244, No. 16, 4499 - 4509

ZELLER, G.A. & BARSKY, J. (1952)

In vivo inhibition of liver and brain monoamine oxidase
by 1-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazine.

Proc.Soc.exp.Biol. 81, 459 - 461

Lebenslauf

Am 26. September 1946 wurde ich als drittes von sechs Kindern des Staatsanwalts Karl Goecke und seiner Ehefrau Felicitas Goecke, geborene Schwerm, in Delbrück, Kreis Paderborn, geboren.

Von 1953 bis 1957 besuchte ich die Volksschule Bergisch-Gladbach Heidkamp, danach wechselte ich auf das Städtische Alt-sprachliche Gymnasium Bergisch-Gladbach über. 1965 zogen meine Eltern nach Paderborn, wo ich das Staatliche Gymnasium Theodorianum besuchte und am 3. Juli 1967 das Abitur ablegte. Im Wintersemester 1967/68 begann ich das Studium in Marburg, ab Wintersemester 1968/69 das Medizinstudium und bestand im Dezember 1973 das Staatsexamen.

Von Januar 1974 an leistete ich an der Chirurgischen Universitätsklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. Hamelmann), an der Dermatologischen Universitätsklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. Friederich) und an der Medizinischen Universitätsklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. Martini) meine Medizinalassistentenzeit ab.

Im Dezember 1971 heiratete ich Ingrid Dommers.

Meine akademischen Lehrer in Marburg waren die Herren
Professoren und Dozenten:

Amon, Arndt, Barthelmai, Berendes, Bichler, Bommer, Brasch,
Brück, Buchholz, Busch, Castenholz, Daume, Dimroth, Dölle,
Eissner, Engelhardt, Exner, Friederich, Ganz, Gerdes, Golen-
hofen, Graul, Hamelmann, Hardewig, Hensel, Hess, Heuser,
Hildebrandt, Hohorst, Hort, Ihm, Jacob, Joseph, Kaffarnik,
Karlson, Klein, Knauff, Koch, Koecke, Koransky, Kühnel,
Kuni, Linneweh, Lorenz, Ludwig, Lütcke, Mahr, Mann, Maroske,
Martini, Neurath, Nöth, Nultsch, Petry, Pots, Reim, Richter,
Rodeck, Rohen, Schaumlöffel, Schiff, Schleyer, Schmid,
Schmitz-Moormann, Seidel, Siegert, Straub, Strohmeier, Stuke,
Stutte, Thoenes, Van der Zypen, von Stosch, Walcher, Welge-
Lüssen, Wendt, Wesemann, Wiegandt, Willenbockel.

Meinem verehrten Doktorvater, Herrn Prof. Dr. W. Lorenz, danke ich für die Überlassung des Themas und eines Arbeitsplatzes in seiner Abteilung, sowie für seine Unterstützung bei den pharmakologischen Untersuchungen in dieser Arbeit.

Ebenfalls möchte ich Herrn Dipl. chem. H. Barth für die Unterstützung bei den biochemischen Laboruntersuchungen, sowie den Herren Dr. med. habil. H. Troidl und Dr. med. H. Rhode für ihre Anregungen und Hilfe bei den tierexperimentellen Untersuchungen danken.

Nicht zuletzt möchte ich allen Mitarbeitern des Institutes für ihre Mithilfe danken, insbesondere dem Tierpfleger, Herrn Brusius, der die Hunde über einen so langen Zeitraum gewissenhaft pflegte und sie für die Versuche vorbereitete.

